

N° D'ORDRE :

50.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

A. MEUNIER,

PHARMACIEN,

CHEF DES TRAVAUX PRATIQUES DE PHARMACIE
A L'UNIVERSITÉ DE NANCY.

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude des glucides
dans quelques espèces indigènes du genre
« Lathyrus » (Papilionacées).**

2^e Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le 7 décembre 1933 devant la Commission d'Examen.

Président : MM. L. CUÉNOT.

Examineurs : { P. FALLOT.
J. FRIEDEL.
P. GILLOT.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1933



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547412_0019

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE NANCY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

A. MEUNIER,

PHARMACIEN,

CHEF DES TRAVAUX PRATIQUES DE PHARMACIE
A L'UNIVERSITÉ DE NANCY.

1^{re} Thèse : **Contribution à l'étude des glucides
dans quelques espèces indigènes du genre
« Lathyrus » (Papilionacées).**

2^e Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le décembre 1933 devant la Commission d'Examen.

Président : MM. L. CUÉNOT.

P. FALLOT.

Examineurs : }

J. FRIEDEL.

P. GILLOT.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE MAURICE DECLUME.

1933

UNIVERSITÉ DE NANCY

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen : M. LEAU

Assesseur : M. GAIN

Doyen et Professeur honoraires : M. PETIT.

Professeurs honoraires :

MM. CARTAN, BLAISE, THOULET, GUYOT, GUNTZ,
GRIGNARD, E. DARMOIS, GUTTON.

Maitres de conférences honoraires : MM. FÉRÉE, DELATOUR
· RICHARD,

Professeurs :

MM. CUÉNOT.....	Zoologie.
MAUDUIT.....	Electrotechnique.
GAIN.....	Botanique.
HUSSON.....	Mécanique rationnelle.
TRAVERS.....	Chimie industrielle.
VAVON.....	Chimie organique.
BOURION.....	Chimie physique et Electrochimie.
LEAU.....	Calcul différentiel et intégral.
N.....	Analyse supérieure.
FALLOT.....	Geologie.
CORNUBERT.....	Chimie.
LONGCHAMBON.....	Minéralogie.
COURTOT.....	Chimie appliquée à la teinture.
N.....	Physique.
MENTRÉ.....	Mécanique appliquée.
BOUIN.....	Zoologie appliquée.
DE MALLEMANN.....	Physique.
JOLY.....	Géologie de la Lorraine.
CHEVALLIER.....	Physique.

Maitres de conférences :

RAYBAUD.....	Botanique.
DELSARTE.....	Mathématiques générales.
POIROT.....	Physique.

Chargé de cours :

LAFFITTE.....	Chimie générale.
DUBREIL.....	Analyse supérieure.

Maitre de conférences adjoint :

FRIEDEL.....	Botanique.
--------------	------------

Secrétaire : M. BERTRAND.



À MONSIEUR L. CUÉNOT,

MEMBRE DE L'INSTITUT,
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY.

Hommage de respect et de reconnaissance.



A MES PARENTS,

A MA FEMME ET A MON FILS,

Témoignage de ma profonde affection.

Meis et Amicis.

AVANT-PROPOS.

L'étude de la composition chimique des végétaux est une science fort ancienne. Toutefois, malgré les documents nombreux que nous possédons sur ce sujet, les méthodes d'investigation dont les chimistes disposent actuellement ont amené de profondes modifications dans les idées générales que l'on se faisait de certains principes extractifs.

Alors qu'autrefois, on retirait des végétaux des substances plus ou moins pures et parfois mal déterminées, on est parvenu, aujourd'hui, à isoler des complexes dans lesquels les produits trouvés antérieurement ne rentrent souvent que comme éléments.

Si l'on envisage, par exemple, l'étude particulière des glucides, on constate que c'est seulement depuis une trentaine d'années, que l'on est arrivé, par des procédés biochimiques qui font le sujet de ce travail, à découvrir dans les plantes, la présence d'hétérosides importants. Ces principes étaient restés jusqu'alors, pour la plupart, inaperçus et l'on avait surtout caractérisé leurs produits de dégradation.

Les méthodes utilisées sont fondées sur les propriétés que possèdent les ferments d'hydrolyser les glucides en solution aqueuse, d'une manière spécifique à chacun d'eux. Les ferments provenant des êtres vivants et leurs réactions étant des réactions d'ordre chimique, on a donné à ces méthodes le nom de *méthodes biochimiques*.

La plus grande partie de nos recherches repose sur leur emploi,

Avant d'exposer l'ensemble de nos travaux, qu'il nous soit permis d'exprimer notre profonde gratitude à Monsieur le Professeur L. CUÉNOT, membre de l'Institut, pour le très grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider la soutenance de cette thèse.

Nous tenons à témoigner, d'une façon toute particulière, notre reconnaissance à Monsieur le Professeur P. GILLOT, qui, après nous avoir initié aux recherches biochimiques, nous a inspiré le sujet de cette étude et n'a cessé de nous guider au cours de son exécution.

La mise au point de ces recherches nous a été grandement facilitée par Monsieur le Doyen P. SEYOT et Monsieur le Professeur P. GRÉLOT, qui, non contents de nous encourager, se sont efforcés de nous procurer les moyens matériels de travail.

C'est aussi avec gratitude que nous adressons un souvenir ému à la mémoire de Monsieur le Professeur M. BRIDEL, ravi prématurément à la Science, qui, dans des moments difficiles, a bien voulu nous accorder l'hospitalité la plus bienveillante dans son laboratoire du Muséum d'Histoire Naturelle et n'a jamais cessé de nous encourager dans nos recherches.

Que tous nos Maîtres de la Faculté des Sciences et de la Faculté de Pharmacie, Messieurs FALLOT, FRIEDEL, HÉRISSEY, LASSEUR, LONGCHAMBON, PASTUREAU veuillent bien agréer nos remerciements les plus respectueux pour la complaisance avec laquelle ils ont mis à notre disposition les documents et les produits chimiques qui nous manquaient.

Nous disons amicalement merci à Mlle BOURDOUIL, MM. RABATÉ et MARCHAL pour les nombreux conseils qu'ils nous ont si aimablement prodigués.

Enfin, nous prions ceux qui nous ont facilité notre tâche et que nous aurions pu omettre involontairement, de croire à notre bien vive reconnaissance.

INTRODUCTION.

Au cours de notre étude sur les *Lathyrus*, nous avons pu nous rendre compte de l'insuffisance bibliographique de nombreux ouvrages et de l'intérêt qu'il y aurait pour le chercheur à trouver, dans un travail de Chimie végétale, une vue d'ensemble sur les méthodes biochimiques.

Le nombre considérable de publications dont les méthodes fermentaires ont été l'objet exige, de temps en temps, une mise au point.

Celle-ci fut réalisée en 1913 par M. BRIDEL. Des faits nouveaux s'étant accumulés depuis cette époque, il nous a semblé utile de reprendre au début de ce travail l'histoire des méthodes biochimiques au point où l'avait laissé ce Maître regretté.

Actuellement, ces procédés de recherche des glucides dans les végétaux prennent chaque jour plus d'importance, tant au point de vue physiologique, qu'au point de vue chimique ; nos études scientifiques et pharmaceutiques, faites dans les Facultés de Nancy, nous ont facilité l'utilisation des diastases pour identifier, puis étudier quelques principes immédiats des végétaux. Plus spécialement, nous nous sommes attaché à la recherche des glucides dans la famille des Légumineuses où nous avons commencé l'étude des espèces indigènes du genre *Lathyrus*.

Nos observations personnelles concernant ces plantes ont été faites tant au point de vue statique qu'au point de vue dynamique.

Etant donné l'étendue du sujet, il nous a paru néces-

saire de passer sous silence les travaux relatifs à la description des espèces et de nous limiter aux recherches chimiques et biochimiques.

Les mémoires concernant les gesses indigènes sont peu nombreux. En dehors des études de BRACONNOT et de HARLAY, sur les tubercules du *Lathyrus tuberosus* L., nous ne connaissons, en effet, pour le genre *Lathyrus*, aucun travail d'ensemble.

Si l'on excepte l'œuvre magistrale de MAGROU sur le *Lathyrus macrorhizus* Wimm. et l'analyse biochimique succincte du *Lathyrus pratensis* L. par VERGELOT, on peut dire qu'il existe encore d'importantes lacunes au point de vue chimique et physiologique.

C'est dans le but de combler en partie quelques-unes de ces lacunes, que nous nous sommes efforcé d'étudier les glucides des différents *Lathyrus* ainsi que leur métabolisme.

La répartition très vaste des oses, leur rôle dans la solubilisation, le transport et l'utilisation des produits élaborés à l'état d'osides, nous les présentent comme des composés de grande valeur physiologique.

On sait, en effet, que les oses et les osides qui forment la grande classe des glucides, tiennent une place essentielle dans la nutrition de la Plante.

Les étudier, les suivre dans leurs modifications, c'est chercher, pour une part importante, à connaître le mécanisme vital. La Chimie doit apporter ici son précieux concours à la Physiologie végétale.

Dans l'exécution de ce travail, nous nous sommes limité aux gesses indigènes, mais les cinq années que nous avons consacrées à leur étude nous ont tout au plus permis de résoudre quelques questions parmi les nombreux problèmes que nous nous étions posé. Nous ne considérons d'ailleurs ces résultats que comme le prélude de travaux ultérieurs.

En fait, le programme que nous nous sommes tracé se rapporte principalement aux glucides. Il comprend d'abord l'inventaire de ces principes encore inconnus

dans les gesses, puis l'étude simultanée des variations des oses et des osides, enfin, la détermination des ferments spécifiques de ces corps et leur rôle.

Ces recherches terminées, nous pourrons, suivant les propres paroles de M. BRIDEL, « *aborder l'étude du métabolisme de ces composés, savoir comment ils peuvent se former, sous quelles influences ils se décomposent et de quelle utilité ils peuvent être pour la plante* ».

PLAN DU TRAVAIL.

PREMIÈRE PARTIE.

Les méthodes biochimiques de recherche des osides.

CHAPITRE I. — Leur origine.

- § I. Ferments.
- § II. Spécificité des ferments.
- § III. Application de la spécificité.

CHAPITRE II. — Les méthodes et leurs techniques.

CHAPITRE III. — Leurs résultats.

- § I. Holosides.
- § II. Hétérosides.

DEUXIÈME PARTIE.

Application des procédés biochimiques à la recherche et au dosage des glucides dans quelques espèces du genre *Lathyrus* L.

CHAPITRE I. — *Lathyrus tuberosus* L.

- § I. Etude biochimique et chimique.
- § II. Variations glucidiques annuelles.

CHAPITRE II. — *Lathyrus silvestris* L.

- § I. Essais biochimiques.
- § II. Variations glucidiques annuelles.

CHAPITRE III. — Essais biochimiques de quelques *Lathyrus* indigènes.

CHAPITRE IV. — *Lathyrus niger* Wimm.

§ I. Etude biochimique et chimique.

§ II. Variations glucidiques annuelles.

§ III. Mélanogenèse du *Lathyrus niger* Wimm.

§ IV. Influence des conditions de dessiccation sur la composition glucidique de la plante.

CHAPITRE V. — I Recherche chimique et biochimique sur l'arbutoside.

II. Observations sur la formation et les variations de l'arbutoside dans les plantes.

Conclusions générales.

Index bibliographique.

Table des Matières.

*
**

Pour l'exposé de ce travail, nous avons adopté le plan suivant :

PREMIERE PARTIE.

La première partie est consacrée à l'étude des méthodes biochimiques que nous avons utilisées pour caractériser et extraire les holosides et les hétérosides des végétaux.

Nous en résumerons brièvement l'origine et mentionnerons en outre les modes opératoires, ainsi que les observations ou les modifications que nous avons pu y apporter.

Après l'exposé des méthodes générales de recherche, il nous a semblé d'un grand intérêt d'énumérer rapidement les osides isolés ou étudiés grâce aux procédés biochimiques.

Nous avons réuni dans ce chapitre la plupart des résultats acquis jusqu'en 1933. Nous espérons que ce résumé, malgré quelques omissions involontaires, rendra de réels services à tous ceux qui s'intéressent à la Chimie végétale.

DEUXIEME PARTIE.

Dans la deuxième partie, qui est surtout expérimentale, nous avons exposé l'application de ces méthodes aux espèces indigènes du genre *Lathyrus*. Après avoir identifié quelques glucides, nous avons essayé de déceler les modifications de ces substances et suivi pour cela leurs variations quantitatives, dans des conditions naturelles ou anormales.

Les différents chapitres relatent les résultats obtenus et leur interprétation.

En résumé, notre travail a eu deux buts :

1° Faire une mise au point, aussi consciencieuse que possible, des recherches entreprises jusqu'alors par les méthodes biochimiques, en donnant leurs modes opératoires et les résultats obtenus.

2° Par l'utilisation personnelle de ces méthodes, apporter notre modeste contribution à l'étude chimique et biologique des glucides dans quelques gesses indigènes.

Pour donner plus de clarté à l'ensemble de ces recherches, nous avons dressé le plan ci-joint avant l'exposé des méthodes.

Au cours de ce travail, nous avons consulté de nombreuses publications. Toutes les références bibliographiques figurent à la fin de ce volume, avant la table des matières, sous forme d'un index classé par ordre alphabétique.

PREMIÈRE PARTIE

Les méthodes biochimiques de recherche
des osides.

Origine et résultats.

PREMIÈRE PARTIE.

Les méthodes biochimiques de recherches des Osides.

Origine et résultats.

Instituée en 1901, la méthode biochimique de BOURQUELOT a été le point de départ d'un grand nombre de découvertes. Par les nombreuses extensions qu'elle a subies, elle s'est classée comme un procédé général de recherche en Chimie végétale.

Depuis une trentaine d'années, cette méthode a permis de découvrir un grand nombre d'hétérosides et d'holosides nouveaux. C'est ce que nous rappellerons en détail au début de ce travail qui est une application des méthodes biochimiques à diverses plantes indigènes du genre *Lathyrus* (Papilionacées).

Nous avons divisé la première partie en trois chapitres.

Le premier chapitre est consacré à l'origine des méthodes biochimiques.

Le deuxième comporte l'étude succincte de ces méthodes et leur emploi général.

Enfin, dans le dernier chapitre, nous avons résumé les résultats obtenus.

CHAPITRE PREMIER.

Origine des méthodes biochimiques.

§ I. — Ferments et action fermentaire.

C'est au début du XIX^e siècle, après les recherches de DUBRUNFAUT et de MITSCHERLICH, que furent découvertes les premières diastases dont les actions remarquables avaient été déjà entrevues dès le XVI^e siècle.

Certains les appelèrent *ferments solubles*, en comparant leur action à celle des ferments figurés. Les Allemands, avec KÜHNE [288] (1), préférèrent utiliser le nom d'*enzyme* qui permettait, disaient-ils, de distinguer les ferments organisés, liés à l'activité biologique des organismes, des ferments inorganisés, qui agissent lorsqu'ils sont séparés des cellules vivantes. En France, ce fut le terme *diastase* qui prévalut, bien qu'il ait été employé au début pour désigner le premier ferment inorganisé découvert par PAYEN et PERSOZ [318].

Cependant, de nombreux auteurs avaient fait remarquer que les ferments figurés ne s'opposent pas aux ferments solubles, puisqu'ils doivent en réalité leurs propriétés essentielles à ces mêmes ferments solubles qu'ils contiennent, et que, par conséquent, une même appellation devait désigner ces deux catégories. On sait que la question a été définitivement tranchée par les beaux tra-

(1) Les chiffres, en caractères gras, mis entre crochets, renvoient à l'index bibliographique, placé avant la table des matières.

vaux de BÜCHNER [157]. Ce savant a isolé, grâce à l'action puissante de la presse hydraulique, un liquide qui, mis en présence de sucre, le transforme dans les mêmes conditions que la levure. Ainsi l'action de ce dernier agent doit être attribuée à celle d'un seul et même ferment actif : la zymase.

L'importance des diastases dans les phénomènes vitaux essentiels se manifeste par la grande diversité et la grande dispersion de ces produits dans les règnes animaux et végétaux. Claude BERNARD a pu dire, non sans raison, « *que les ferments solubles devaient contenir, en définitive, le secret de la vie* ».

Tel était du moins le sentiment de son école qui admettait que c'est par l'intermédiaire des enzymes que s'effectue la transformation de toutes les substances indispensables à la vie et que c'est également sous leur action que se fait la synthèse des principes immédiats élaborés par les plantes.

Les recherches de BOURQUELOT, utilisant les glucidases comme catalyseurs dans la synthèse des hétérosides, vint appuyer par des arguments de valeurs cette manière de voir.

Toutefois, actuellement, dans le domaine de la Chimie végétale, des biologistes éminents n'admettent pas complètement ces théories. H. COLIN, notamment, estime que les réactions biochimiques de synthèse ne suffisent pas, contrairement à ce qu'on avait cru tout d'abord, pour expliquer les particularités du chimisme vital. Selon lui, les processus naturels semblent liés à la vie même de la plante ; ils cessent irrévocablement dès que l'appareil est détruit.

En fait, dit-il, « *on ne peut définir la vie comme une source de phénomènes diastatiques. Un petit nombre seulement de réactions intracellulaires relèvent d'enzymes authentiques ; ce sont surtout des réactions de dégradation ; elles s'effectuent tout aussi bien in vitro et ne dépendent de la vie qu'en raison des ferments qui les provoquent. Il en va tout autrement des opérations*

de synthèse ; celles-ci sont inséparables de la vie et rien n'autorise à les assimiler purement et simplement à des phénomènes diastases ». ([181] p. 304).

CONCEPTIONS ACTUELLES SUR LA NATURE DES FERMENTS.

Ce problème, si captivant pour les biochimistes, est loin d'être résolu ; il constitue l'une des questions les plus ardues de la chimie contemporaine. Ces corps, qui ne sont pas des organismes vivants, ont prêté dans le domaine scientifique à de nombreuses controverses.

Deux théories se sont affrontées à ce sujet : celle de la « *diastase substance* » et celle de la « *diastase propriété* », les uns tenant l'enzyme pour un produit chimiquement défini, les autres croyant à une propriété de substance, la diastase ne fonctionnant, pour eux, que comme une simple réserve d'énergie.

Jusqu'à ces dernières années, aucune découverte n'était intervenue pour décider en faveur de l'une ou de l'autre de ces théories. On connaissait bien quelques propriétés communes. Les diastases, en effet, sont solubles dans l'eau et sont précipitables par l'alcool fort, leur activité croît avec la température jusqu'à un maximum variable pour chaque enzyme, au-delà duquel le ferment devient rapidement inactif.

Les chimistes, considérant primitivement les diastases comme des principes immédiats, croyaient pouvoir obtenir après purification des corps nettement définis. Les résultats contradictoires fournis par les analyses semblaient cependant démontrer l'impossibilité, par les méthodes actuelles, de préparer les diastases à l'état de pureté. Le problème restait irrésolu.

Récemment, un fait important est venu plaider en faveur de la « *diastase substance* ». SUMNER [355], en 1928, réussit à isoler un ferment protéolytique, l'uréease, sous la forme cristallisée. C'était la première diastase préparée à l'état de pureté. D'après l'auteur, il s'agirait

d'une globuline dont l'activité s'accroît par cristallisation successive. Il n'y aurait donc pas adsorption du ferment sur le corps cristallisé et ce dernier représenterait véritablement l'enzyme.

Cette découverte semble actuellement bien établie, mais peut-elle se généraliser ?

Quelle opinion doit-on se faire, maintenant, sur la nature des diastases, puisqu'on était à peu près d'accord, avant la découverte de SUMNER, sur l'état colloïdal de ces substances ?

L'uréase se classe parmi les protéases ; jugera-t-on de la même manière les glucidases ? WILLSTÄTTER et son école ont pourtant cherché à résoudre cette question, en appliquant aux enzymes les méthodes de la Chimie organique ; mais leurs tentatives ont échoué, car, pendant le traitement de purification, l'activité fermentaire des agents allait toujours en se dégradant, pour finalement disparaître.

C'est d'ailleurs cette labilité qui avait fait classer les ferments parmi les colloïdes.

Quoi qu'il en soit, on sait que, dans la vie cellulaire, les réactions sont sous la dépendance de ces puissants catalyseurs, qui, sans se détruire, jouent un rôle de premier ordre à dose infinitésimale. Les belles recherches de G. BERTRAND [10] ont montré qu'on devait rapprocher ces phénomènes des actions catalytiques provoquées par la présence de métaux, à l'état de trace, dans les cellules. Des idées nouvelles se sont dégagées de ces faits. Il a fallu concevoir dans l'étude des ferments solubles, qu'on devait tenir compte non seulement de la substance organique, considérée jusque là comme le seul principe actif, mais aussi de substances beaucoup plus simples, à poids moléculaire peu considérable, qu'on pourrait appeler co-ferments, ici minérales, là peut-être organiques, et qui constituent, avec la micelle colloïdale, le système véritablement actif.

EFFRONT [205] émit, l'un des premiers, cette théorie qui fut reprise par HUGOUNENQ et LOISELEUR [279].

Nous entrons, avec ces auteurs, dans le domaine de la « *diastase propriété* », puisqu'ils considèrent le ferment comme formé d'un principe minéral extrêmement divisé, adsorbé par un support organique colloïdal. Par sa grande dispersion à la surface du colloïde, l'élément minéral agirait à l'état de traces en provoquant dans le système un déséquilibre ionique. Cette action des micelles sur les électrolytes prévoit immédiatement la possibilité de l'utilisation d'une certaine quantité de l'énergie intramoléculaire et l'on expliquerait ainsi la puissance des phénomènes diastasiques.

En fait, comme nous pouvons le constater, les nombreuses recherches actuelles montrent des opinions divergentes sur ce sujet.

Dans le groupe des glucidases, ferments qui nous intéressent plus particulièrement, nous voyons une question excessivement complexe que nous ne saurions mieux traduire qu'en empruntant l'opinion émise par H. COLIN [183] (p. 291) dans un récent travail sur les diastases, avis qui reste vrai pour nos ferments :

« Dans ce qu'il a d'essentiel, le problème de l'hydrolyse fermentaire reste intact, en dépit d'innombrables recherches poursuivies, les plus récentes du moins, avec toutes les ressources de la technique moderne. La solution, que jadis on espérait prochaine, ne paraît pas encore près d'être atteinte : nous ignorons toujours la nature exacte des glucidases, les plus pures que l'on ait obtenues restent souillées de matières étrangères ».

En dehors de nombreux inconnus qui subsistent dans le problème diastasique, un fait est bien établi : nous savons que la Physiologie végétale et animale est sous la dépendance directe de ces actions fermentaires, actions naturelles surtout catalytiques qui ont donné sur la composition et sur le fonctionnement chimique de la matière vivante des lumières inattendues.

Les ferments agissent généralement en quantité extrêmement petite pour déclancher ou accélérer des réactions qui, sans leur intervention, ne se produiraient pas,

ou ne se feraient qu'à des vitesses excessivement faibles. Ils peuvent favoriser la transformation de masses énormes de corps sur lesquels il agissent ; enfin, ils se retrouvent inaltérés, les réactions achevées et pourraient fonctionner indéfiniment, si des facteurs nocifs ne les amoindrissaient pas.

C'est dans l'étude de ces actions diastasiques que BOURQUELOT eut, l'un des premiers, l'idée des méthodes biochimiques. Il comprit, tout d'abord, que les ferments, par leur spécificité et leur action très douce, par leur pouvoir catalytique permettant de les utiliser à dose minime, pouvaient constituer de véritables réactifs de laboratoire. Ses recherches l'amènèrent à la découverte mémorable de la réversibilité fermentaire par les synthèses biochimiques. Jusque là, on croyait que les diastases n'avaient qu'un rôle d'assimilation chez les êtres vivants et qu'elles provoquaient uniquement les hydrolyses nécessaires à la vie cellulaire.

A partir de ce moment, il fallut envisager les ases dans l'organisme comme des catalyseurs susceptibles de détruire ou de construire suivant les nécessités et les conditions de la vie.

D'après les besoins physiologiques, les ferments peuvent, chez la plante comme chez l'animal, ne plus hydrolyser mais agir synthétiquement pour la formation des réserves. Ils jouent aussi le rôle d'élément stabilisateur en éliminant les composés dangereux ou en excédant et en maintenant ainsi les équilibres vitaux.

Une des plus belles vérifications de cette théorie fut la découverte, en 1925, par N. WATTIER [382], du méthylglucoside β dans les Dipsacées. BOURQUELOT avait préparé cet oside synthétiquement par les méthodes fermentaires ; mais il estimait, d'après ses hypothèses, qu'on devait découvrir ce corps dans le règne végétal. Le fait était d'autant plus remarquable qu'il apportait une éclatante confirmation aux idées nouvelles que ne pouvaient laisser prévoir nos anciennes conceptions sur la nature et le rôle des ferments,

Nous avons utilisé dans nos recherches quelques glucidases employées dans les méthodes biochimiques. Pour mieux comprendre l'importance de leur action comme réactif de laboratoire, il nous faut préalablement définir la notion de spécificité.

§ II. — Spécificité des ferments des glucides ou glucidases.

La notion de spécificité chez les diastases a été mise en évidence de longue date et les méthodes biochimiques dont BOURQUELOT fut le novateur, reposent pour une grande part sur cette notion.

La question, toutefois, est à l'heure actuelle loin d'être résolue. Si l'on admet sans peine qu'une glucidase n'ait rien de semblable à une lipase ou à un ferment protéolytique et même que l'amylase soit autre chose que la sucrase, les difficultés apparaissent dès qu'on observe l'individualité des ferments.

Sur cette théorie de la spécificité, on a créé toute une série d'enzymes, caractérisés chacun par des différences dans leurs actions diastasiques. Il ne peut en être autrement tant que nous n'aurons pas d'indications plus nettes sur la composition des enzymes. Ces complexes n'ont pas été séparés à l'état de pureté. Leur nature nous échappe encore, à l'heure actuelle, presque totalement par suite d'une manipulation difficile, provoquée par leur extrême fragilité.

L'hypothèse déjà ébranlée de l'état colloïdal chez les diastases permet bien d'expliquer certaines de leurs propriétés, mais elle ne peut résoudre le problème de la spécificité.

Nous commençons cependant, dans quelques cas bien étudiés, à connaître les phénomènes qui se passent entre le ferment et la substance soumise à son action. Ces notions, très imprécises, montrent ferment et récepteur

fermentaire formant un composé instable qui se décompose ensuite suivant les règles de la chimie.

C. CHARAUX [169], en ce qui concerne l'action de la rhamnodiastase sur le robinoside, hétéroside insoluble dans l'eau, a mis en évidence ce complexe ferment-hétéroside qui se présente sous la forme d'une gelée pâteuse, se fluidifiant peu à peu.

Le phénomène de la spécificité est indiscutable si l'on envisage les estérases, les glucidases, les protéases. Le problème devient extrêmement délicat dans l'étude de chaque catégorie.

Actuellement, on utilise pour rechercher la spécificité trois procédés :

1° La méthode comparative, qui étudie l'action des ferments provenant de différentes sources, parallèlement sur un ou plusieurs corps bien définis. G. BERTRAND et HOLDERER [18] ont par ce moyen établi la spécificité de la cellase, le ferment du cellobiose.

Toutefois, comme le constatait récemment M. BRIDEL [117], cette méthode peut conduire à des erreurs, notamment quand l'action fermentaire est excessivement lente.

C'est le cas de l'émulsine d'amandes sur les primeverosides et de l'extrait de levure basse sur les galactosides de la série α .

2° La seconde méthode, appelée de destruction partielle ou de dissociation, repose sur la destruction de certaines diastases dans un milieu fermentaire, soit par la chaleur, soit par des réactifs appropriés.

On peut ainsi ne conserver que quelques propriétés diastasiques actives. C'est de cette manière que BRIDEL et ARNOLD [121] enlèvent la sucrase qui se trouve toujours dans l'émulsine des amandes, en traitant le complexe fermentaire par de l'alcool méthylique fort.

Nous verrons également que le traitement préalable de la levure des boulangers par l'alcool éthylique à 95°, dans la préparation de l'invertine, a pour but d'éliminer les traces de maltase qui pourraient y exister.

3° Enfin, la troisième méthode est celle de V. HENRI et LARGUIER DES BANCELS [256], fondée sur les vitesses de réaction. Nous ne nous y arrêterons pas. On se reportera avec profit aux travaux de H. BIERRY [25, p. 30] et de H. COLIN [183, p. 34] qui ont fort bien décrit ces recherches. Toutefois, ce dernier auteur a montré qu'on pouvait mettre le procédé en défaut et qu'en fait, dans ces études de spécificité, on était, selon sa propre expression, en plein cahos, par suite d'incessantes contradictions.

La théorie de FISCHER qui admet, suivant une expression imagée, que le ferment s'adapte à la substance qu'il dédouble comme « une clé à une serrure », se soutient très bien. Ce principe a d'ailleurs été fort utile pour montrer chez certains osides une constitution stéréoisomérique semblable et FISCHER a pu s'appuyer sur l'action spécifique des ferments pour classer les hétérosides en deux séries α et β , la série α dédoublable par les enzymes de la levure, la série β hydrolysable par l'émulsine.

Nous voyons de suite l'utilité des ferments solubles comme réactif spécifique de certains groupements atomiques. Ils fournissent ainsi des indications supérieures à celles que donnent les méthodes chimiques actuelles.

On ne peut, malgré cela, faire une trop grande généralité sans se voir entraîner à des erreurs. Comment concevoir, par exemple, qu'un milieu fermentaire puisse hydrolyser le saccharose à l'exclusion du raffinose, ou le maltose sans toucher à l'acide maltobionique, comme cela se passe chez quelques animaux supérieurs ?

Certains auteurs admettent entre les ferments des différences de structure semblables à celles qui existent entre les glucides des séries α et β et rejoignent en cela l'hypothèse de FISCHER.

D'après de récentes recherches, on sait seulement que la spécificité ne vient pas uniquement de l'élément minéral du substratum fermentaire, ni des relations qui peuvent unir l'élément colloïdal du ferment avec les différents électrolytes,

Nous devons reconnaître en toute sincérité, que ce problème que l'on croyait facile à résoudre se montre d'une complexité croissante. Il est, par conséquent, impossible de dire ce qui fait la spécificité d'une glucidase dans l'état actuel de nos connaissances. On ne peut établir aucune règle définitive, les récentes propriétés attribuées à la sucrase en sont la preuve. Nous serons de l'avis de G. BERTRAND qui a fait remarquer, très justement, que « *le réactif diastasique dont l'action paraissait d'une spécificité absolue quand on se bornait à l'étudier dans ses rapports avec le principe immédiat attaquable, à côté duquel on l'avait découvert, n'a plus qu'une action spécifique relative quand on vient à reconnaître la fonction ou la structure chimique qui rendait le principe immédiat tributaire de son action* » [14 a].

§ III. — Application de la spécificité fermentaire dans la création des méthodes biochimiques.

L'idée de spécificité chez les diastases, telle qu'on a pu la concevoir autrefois, c'est-à-dire une action fermentaire ne s'exerçant rigoureusement que sur un seul corps bien défini, s'estompe chaque jour davantage. Cependant, c'est en s'appuyant sur les propriétés que possèdent les diastases de s'attaquer plus spécialement à certains composés que BOURQUELOT eut l'idée des méthodes biochimiques. Ce savant utilisa les ferments comme de véritables réactifs de laboratoires capables de donner des indications précises sur les mélanges complexes qui leur étaient soumis.

Les ases, par suite d'un mode d'action catalytique qui facilite leur utilisation sous une masse restreinte de produit, permettent en effet des réactions impossibles à réaliser avec des réactifs purement chimiques.

Un exemple, que nous avons emprunté à M. BRIDEL ([118] p. 189), fera mieux comprendre le parti qu'on peut tirer des diastases dans la recherche scientifique :

« On sait que le gentianose est un hexotriose formé de l'union d'une molécule de fructose et de deux molécules de glucose avec élimination de deux molécules d'eau.

On sait également que la constitution du gentianose est connue depuis les belles recherches de BOURQUELOT et HÉRISSEY (1901).

Ces deux savants ont montré que l'hydrolyse du gentianose par les acides peut être réalisée en deux temps suivant la concentration de l'acide employé : avec un acide à 2 p. 1000, il y a mise en liberté de fructose, alors que les deux glucoses restent unis sous forme de gentiobiose ; avec un acide à 30 p. 1000, le gentiobiose est hydrolysé en deux molécules de glucose. Cette hydrolyse en deux temps se fait aussi par l'action de deux produits fermentaires : l'invertine met en liberté le fructose et l'émulsine des amandes dédouble le gentiobiose formé.

On peut arriver ainsi aux mêmes résultats avec les réactifs chimiques et avec les ferments. Mais il est impossible de provoquer l'hydrolyse du gentianose en mettant en liberté d'abord du glucose, si on a recours aux acides. De quelque manière que l'on conduise l'hydrolyse c'est toujours le fructose qui sera libéré le premier, parce que l'union du fructose avec le glucose est beaucoup plus sensible à l'hydrolyse acide que celle des deux glucoses entre eux. On ne peut donc avoir ainsi de renseignements sur le mode d'attache du fructose et du glucose dans le gentianose.

Il n'en est plus de même avec les ferments. J'ai montré en 1920 avec BOURQUELOT que si l'on fait agir sur le gentianose l'émulsine des amandes, il y a mise en liberté d'une molécule de glucose ; le fructose reste uni à l'autre molécule de glucose sous forme de saccharose qui a été obtenu à l'état cristallisé.

C'est donc par l'emploi des ferments qu'on est arrivé à élucider complètement la constitution du gentianose. Ajoutons que l'obtention du saccharose en partant du gentianose n'a fait que démontrer l'exactitude de l'hy-

pothèse de BOURQUELOT et HÉRISSEY, qui ont toujours considéré cet hexotriose comme une combinaison du saccharose avec le glucose ».

Sans multiplier les exemples, rappelons également que c'est grâce aux ferments que plusieurs chercheurs ont pu isoler des sucres complexes, (primevèrose, rutinose, vicianose, rhamninoſe) dont nous ne connaissions même pas l'existence auparavant.

De ces propriétés particulières, BOURQUELOT et tous ses élèves ont su tirer un parti remarquable, dans les études de laboratoire, en créant les méthodes biochimiques de recherche des glucides dans les végétaux.

Nous allons rapidement passer en revue ces méthodes et les résultats magnifiques qu'elles ont apportés à la Science.

CHAPITRE II.

Les méthodes biochimiques et leurs techniques.

§ I. — Les méthodes biochimiques de recherche et de dosage des osides dans les végétaux.

Pour bien comprendre l'importance de ces méthodes, il convient de résumer rapidement l'état actuel des procédés biochimiques et leurs résultats, rendant ainsi un juste hommage au regretté Maître Em. BOURQUELOT et à ses disciples H. HÉRISSEY et M. BRIDEL.

Dans l'un de ses derniers articles [43], BOURQUELOT, exposant le bilan de ses découvertes, montrait que si les principes actifs de nombreuses plantes utilisées en thérapeutique nous semblent maintenant familiers, il n'en était pas de même au début du XIX^e siècle. L'isolement, en 1803, de la morphine par DEROSNE, pharmacien à Paris, avait été, écrivait-il, un événement d'autant plus considérable qu'il apportait avec lui un procédé pratique d'extraction des bases végétales. Les chimistes trouvaient devant eux, dès cette époque, un vaste champ d'investigation. Aussi, connaissait-on, en 1920, plus de 250 alcaloïdes végétaux (d'après une liste parue dans le Journal Suisse de Pharmacie [177]).

En employant cette méthode, on étudia successivement les végétaux que leurs propriétés particulières avaient

fait inscrire dans les pharmacopées. Quelle ne fut pas la stupéfaction des chercheurs en constatant que des plantes considérées par les Anciens comme douées de remarquables vertus curatives ne renfermaient, en dehors de principes anodins et courants, aucun alcaloïde. On douta bientôt de leur pouvoir thérapeutique et, peu à peu, leur suppression dans l'art médical fut chose faite.

Cependant, par hasard, on avait isolé des principes actifs d'une nature différente. Dès 1829, LEROUX, pharmacien à Vitry-le-François, présentait à l'Académie des Sciences un corps cristallisé qu'il avait extrait de l'écorce de saule et qu'il dénomma salicine [295].

Il croyait avoir préparé un nouvel alcali végétal. GAY-LUSSAC, dans l'étude qu'il en fit peu après, montra que c'était un corps neutre, incapable de donner des sels avec les acides.

Dans des conditions semblables, des composés analogues furent découverts. Comme ils étaient tous hydrolysés par l'acide sulfurique étendu, bouillant, en plusieurs produits dont l'un était du sucre réducteur, toujours considéré à cette époque comme du glucose, on les groupa sous le terme général de glucosides.

On remarqua d'autre part que l'émulsine, ferment soluble hydratant, en hydrolysait quelques-uns. Dès 1901, on comptait parmi ces derniers quatorze glucosides.

Spécialisé dans l'étude des actions fermentaires, Em. BOURQUELOT eut alors l'idée géniale et féconde d'adapter les propriétés dédoublantes des ferments solubles hydratants dans les travaux de Chimie végétale, à la recherche des glucides. Les traitements purement chimiques utilisés pour analyser ces corps agissent parfois trop brutalement. On ne connaît pas, en effet, de réactifs généraux susceptibles de caractériser holosides et hétérosides dans les plantes. Aucune méthode d'extraction ne peut, en outre, se généraliser pour l'isolement de ces principes, comme c'est le cas pour les alcaloïdes. Les acides minéraux et chauds donnent bien avec ces diffé-

rents corps des matières sucrées, mais ces dernières ne font que confirmer l'absence ou la présence des osides et favorisent la confusion des holosides et des hétérosides. Il n'est d'ailleurs pas possible de graduer d'une façon suffisamment précise les conditions de cette action, et l'on hydrolyse aussi bien tous les glucides.

Enfin, dans de nombreux cas, même en opérant avec des acides dilués, la partie non glucidique de la molécule des hétérosides peut subir des altérations ou des modifications profondes.

Il fallait donc découvrir un agent hydrolysant spécifique pour séparer ces différents principes toujours associés dans les plantes et ne plus s'en remettre au hasard. Em. BOURQUELOT trouva dans les ferments solubles le réactif idéal.

Le procédé prit le nom de biochimique ; il peut se résumer, en effet, dans la combinaison d'une observation polarimétrique et d'un essai à la liqueur cupro-alcaline reliés par l'action spécifique d'un ferment, véritable réactif de laboratoire [39].

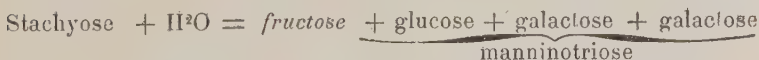
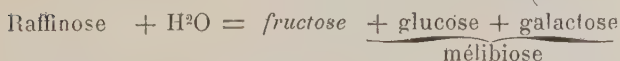
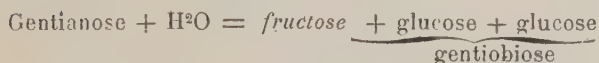
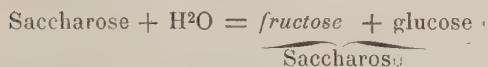
Spécifique ! Tel semblait à l'origine le trait caractéristique de cette méthode qui utilisait deux ferments : l'invertine de la levure qui paraissait ne s'attaquer qu'au saccharose libre ou combiné, (sucre de canne, gentianose, raffinose, stachyose, verbascose), et l'émulsine des amandes. L'action de ce dernier complexe repose sur cette donnée, confirmée par les synthèses biochimiques, que les hétérosides qu'il hydrolyse sont lévogyres et que le seul produit optiquement actif formé, le glucose est dextrogyre. Par suite, en ajoutant de l'émulsine à une solution aqueuse d'un glucoside β dont la déviation polarimétrique est gauche, on observe rapidement un changement de rotation qui s'effectue vers la droite.

Tels sont les principes de cette méthode souvent citée dans de nombreuses publications, devenue même classique, mais que nous avons tenu essentiellement à décrire ici par suite de ses récents perfectionnements, de ses importantes modifications et surtout pour faciliter à tous la compréhension de notre travail.

1° MÉTHODE A L'INVERTINE.

Depuis son utilisation fréquente en Chimie végétale, on supposait que l'invertine, préparée selon les indications de BOURQUELOT, ne renfermait qu'un seul ferment spécifique : la sucrase. Le créateur de la méthode biochimique, tout en ne s'engageant pas d'une façon absolue (1), pensait que l'action du ferment se limitait à l'hydrolyse du saccharose et de ses combinaisons (gentianose, raffinose, stachyose, verbascose). La sucrase agit, en effet, sur ces corps dextrogyres et non réducteurs, diholosides, triholosides, tétraholosides, mis en solution aqueuse, en libérant une molécule de fructose aux dépens du saccharose libre ou combiné et en déplaçant toujours la rotation de la solution examinée vers la gauche. Le liquide devient lévogyre dans le cas du saccharose et réducteur pour tous les sucres.

Les schémas suivants feront mieux comprendre l'action de la sucrase :



Indice de réduction enzymolytique.

Pour tout holoside, tributaire de l'invertine, dont la solution doit être examinée au polarimètre avant et après hydrolyse diastasique, dans un tube de même longueur,

(1) Il suffit de se reporter à son article sur l'emploi des enzymes comme réactif de laboratoire [40].

de 2 dm par exemple, il existe un rapport constant entre le retour de la déviation et la quantité de produit réducteur apparu sous l'influence de la sucrase. Ainsi, à un changement de rotation de 1° vers la gauche correspondra toujours pour le saccharose ($[\alpha]_D = + 66^\circ 5$), la formation de 603 mg. de sucre interverti dans 100 cm^3 de solution. On comprend que cette quantité de produit réducteur constitue un coefficient propre à chaque holoside et caractéristique de ce dernier ; exprimée en milligrammes, elle représente ce que BOURQUELOT a dénommé *l'indice de réduction enzymolytique*. On peut le définir : *le nombre de milligrammes de produits réducteurs, exprimés en glucose, formés dans 100 cm^3 de solution sous l'influence de l'invertine pour un changement de déviation de 1° observé au tube de 2 dm.* Cet indice s'applique également aux hétérosides.

En 1920, des faits nouveaux sont venus modifier l'idée que l'on se faisait de la spécificité de l'invertine ou du moins de son ferment la sucrase. H. COLIN et ses élèves ont montré, en effet, que cette glucidase hydrolyse certains fructoholosides et même un glucoholoside : le laminaroholoside.

On est ainsi amené à considérer maintenant l'invertine, soit comme un complexe fermentaire renfermant une laminarosidase, soit comme une diastase non spécifique de la liaison glucose-fructose. La question, actuellement, n'est pas encore résolue.

Quoi qu'il en soit, A. DE CUGNAC [193], dans son étude sur les glucides des Graminées, a réussi à séparer l'action fermentaire qui se porte sur le saccharose de celle qui agit sur les fructoholosides. Il utilise pour cela les différentes vitesses d'hydrolyse de ces produits.

Comme d'autre part les plantes qui renferment des fructoholosides semblent localisées dans certaines familles végétales, les indices parfois anormaux fournis par la méthode de BOURQUELOT permettent, dans ces cas, d'apporter aux procédés de recherches et d'extraction les modifications nécessaires pour une étude biochimique convenable.

2°. — MÉTHODE A L'ÉMULSINE.

Ce produit fermentaire, qui est d'ailleurs un mélange de plusieurs ferments, est spécifique des glucosides β et son action repose sur cette donnée, confirmée par les synthèses biochimiques de différents glucides, que les hétérosides qu'il hydrolyse sont lévogyres. En ajoutant de l'émulsine à une solution de l'un d'eux, il y a libération, comme principe actif, de glucose qui est dextrogyre et la rotation d'abord gauche de la liqueur, passe à droite. On mesure la quantité de matières réductrices formées et le retour de la déviation polarimétrique.

Il suffit ensuite de calculer l'indice de réduction enzymolytique pour obtenir sur un oside inconnu des renseignements parfois très précis sur la nature et l'individualité du produit.

On emploie le terme produits réducteurs, de préférence au mot sucre ou glucose parce qu'en fait des hétérosides comme le verbénaloside sont déjà réducteurs par eux-mêmes, et que d'autres, comme l'arbutoside, qui fournit de l'hydroquinol, donnent lieu par hydrolyse à la formation non seulement de glucose, mais encore d'autres matières réductrices.

Dans ces cas, l'indice peut être calculé également mais en tenant compte des pouvoirs réducteurs des hétérosides et de leurs produits d'hydrolyse.

Bien que l'essai à l'émulsine ait été imaginé par Em. BOURQUELOT, comme complément du procédé de recherche du saccharose par la sucrase, les récentes découvertes qui diminuent la spécificité de ce dernier ferment n'altèrent en rien la valeur de la méthode.

S'il se produit un déplacement de la rotation vers la droite avec augmentation de sucre réducteur, on peut affirmer que la plante renferme un glucide hydrolysable par l'émulsine.

Dans certains cas, cependant, l'émulsine détermine une augmentation du pouvoir réducteur de la liqueur

extractive, bien que la rotation observée continue à progresser vers la gauche. Il faut alors soupçonner la présence de sucres comme le mélibiose, le manninotriose, etc... qui proviennent du dédoublement partiel par l'invertine, d'holosides complexes à saccharose combiné (raffinose, stachyose). Nous verrons, en effet, que l'émulsine des amandes est un mélange de plusieurs ferments et qu'elle renferme de la mélibiase, de la manninotriase ; ces enzymes agissent sur les sucres correspondants non touchés par l'invertine, en donnant des glucides plus réducteurs et moins dextrogyres.

Un tel cas entraîne forcément l'impossibilité de conclure à la présence d'hétérosides dédoublables par l'émulsine dans la solution examinée.

Quelquefois, par un heureux concours de circonstances, l'hétéroside existant simultanément avec l'holoside est dédoublé plus rapidement que ce dernier ; on constate alors au polarimètre un retour de la déviation vers la droite suivi immédiatement d'un recul vers la gauche.

En fait, malgré des essais biochimiques positifs indiquant la présence des principes recherchés, seul l'isolement des corps, à l'état cristallisé, permet une conclusion définitive. La méthode a toutefois l'avantage d'être simple et rapide ; elle évite les recherches livrées au hasard, dont les résultats sont trop souvent négatifs ; elle donne enfin des indications précieuses avant les tentatives d'extraction.

Voici, brièvement résumées, les grandes lignes de la méthode biochimique de BOURQUELOT. Les résultats montrent son importance. Elle a permis non seulement d'isoler de nombreux oses et osides, mais tout une école de physiologistes a pu, grâce à elle, suivre le métabolisme des glucides dans les plantes, au cours de la végétation annuelle. Nous citerons, pour mémoire, les travaux de VINTILESCO [377], de BRIDEL [99, 94, 102], de GILLOT [219], de Mlle BRAECKE [90], de CHEYMOL [174], de RABATÉ [154, 332], etc...

En 1921, on avait réussi, par ce procédé, à découvrir et à séparer des hétérosides dans cinquante-six espèces végétales. Le créateur de la méthode pouvait lui-même présenter, après vingt ans d'efforts, quinze hétérosides nouveaux.

Ces chiffres ne sont rien d'ailleurs, en comparaison de ce qui existe dans la nature. En l'espace de quelques années, la méthode biochimique a tracé du travail, comme l'a si bien dit Em. BOURQUELOT, pour des générations de chimistes et de physiologistes.

Un résultat inattendu, fut la réhabilitation au point de vue pharmacologique de nombreuses plantes que la pratique médicale semblait avoir bannies pour toujours. On découvrit, en effet, dans le sureau noir, le sambunigroside ; dans le laurier-cerise, le prulaurasoside ; dans le cerisier à grappes, le prunasoside ; dans le plantain, l'aucuboside ; dans le ményanthe ou trèfle d'eau, le méliatoside, qui fut identifié plus tard au loganoside, etc... Personnellement, nous avons réussi à extraire en quantité importante (15 à 20 g. par kilogramme) l'arbutoside, de l'orobe noir dont les semences étaient jadis au Codex, et qui, comme remède, était tombé depuis longtemps en désuétude. Or, l'arbutoside est actuellement un diurétique qui se prescrit dans les affections des voies urinaires et des reins.

Ainsi la méthode de BOURQUELOT permettait de constater scientifiquement, pour la première fois, l'utilité de certaines plantes employées en médecine populaire et considérées comme dépourvues de principes actifs. Ces simples, ainsi vulgairement appelées, contenaient cependant des hétérosides doués d'une action pharmacodynamique incontestable.

3° AUTRES MÉTHODES BIOCHIMIQUES.

L'utilisation des ferments comme réactifs de laboratoire a semblé pouvoir se généraliser. Dès 1906, P. HARANG [251, 252], élève de BOURQUELOT, créa un procédé

de recherche du tréhalose des champignons par la tréhalase, enzyme préparé avec le thalle d'*Aspergillus niger*, et qui dédouble le tréhalose en deux molécules de glucose.

En 1910, VINTILESCO [378] utilisa d'une façon analogue la myrosine, ferment soluble très répandu, pour hydrolyser les hétérosides qui produisent des essences sulfurées, éthers de l'acide isosulfocyanique et qui se trouvent dans un très grand nombre de familles végétales.

Il existe, d'autre part, des hétérosides à ferments hydrolysants inconnus. Certains auteurs employèrent pour les dédoubler, des poudres fermentaires préparées à partir des plantes d'où provenaient ces glucides.

Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY démontrèrent ainsi, dès 1905, la présence, dans la racine de benoite, d'un hétéroside qui, par action de la poudre fermentaire, mettait en liberté de l'eugénol [75]. Le géoside, présumé dès cette époque, ne fut, en réalité, isolé qu'en 1925 (HÉRISSEY et CHEYMOL [274]).

Récemment, en 1926, M. BRIDEL et C. CHARAUX [139], ont donné une nouvelle impulsion aux méthodes biochimiques en utilisant comme source diastasique un produit fermentaire complexe retiré par C. CHARAUX en 1924 des graines du *Rhamnus utilis*. DCNE [165]. Ce produit correspond à la rhamninase de C. et G. TANRET préparée par ces auteurs en 1899 [358] et à la rhamnase de DUCLAUX [359].

Mais, d'après la nouvelle nomenclature, M. BRIDEL a fait remarquer que le nom de rhamninase doit être réservé au ferment qui hydrolyse le rhamninoïse, et rhamnase à celui qui hydrolyse le rhamnose.

C'est pourquoi, avec son collaborateur C. CHARAUX, M. BRIDEL appela le produit extrait des graines de *Rhamnus* : rhamnodiasase [138].

On ne connaît pas exactement la nature des ferments contenus dans ce complexe. L'intérêt du produit réside dans le fait qu'il hydrolyse une série d'hétérosides en li-

bérant, comme l'émulsine, une partie non glucidique, et d'autre part, non plus du glucose β , mais un holoside qui peut être un diholoside (primevèrose, rutinose, vicianose) ou un triholoside (rhamninoase, robinose). D'après ces résultats et ce que nous connaissons des ferments, la rhamnodiastase renfermerait : primevèrosidase, rutinossidase, vicianossidase, rhamnosidase, comme il a été déjà démontré que l'émulsine des amandes renfermait : glucosidase β , lactase, gentiobiase, sucrase, amygdalase, mélibiase, manninotriase, salicase, arbutase, cellobiase, amygdalinase, vicianossidase, vicianase, galactosidase β , galactobiase β , mannosidase α , primevèrosidase, primevèrase, l-arabinossidase α .

Cette longue énumération nous montre que la présence d'un ferment est considérée comme positive à la suite de l'observation d'un phénomène d'hydrolyse. La nomenclature de DUCLAUX [204] repose d'ailleurs sur ces faits. Le ferment est désigné du nom de la substance sur laquelle on a indiqué en premier son action, en ajoutant à la racine du mot, la désinence « ase », comme terminaison.

M. BRIDEL a signalé, avec juste raison, que la spécificité fermentaire porte sur le produit à analyser et non sur le ferment. Il a proposé en 1926 une nomenclature nouvelle fondée sur l'existence d'un même ferment par attache glucosidique (α ou β) [116].

D'après cette classification, le nombre des ferments existant dans la nature ne serait pas aussi grand qu'on tend à le croire, et il est fort possible qu'on arriverait à conclure que c'est un seul et unique ferment qui doit agir sur toutes les combinaisons d'un même glucide réducteur dont l'attache glucosidique est la même (α ou β). On aurait ainsi des glucosidases, fructosidases, mannosidases, galactosidases, etc...

Quoi qu'il en soit, la rhamnodiastase agit en libérant des holosides qui ne renferment pas tous du glucose parmi les sucres qui les constituent. Le glucose β n'est donc pas la seule forme des oses rencontrés et le complexe fer-

mentaire des graines de *Rhamnus* contient des ferments capables de briser d'autres attaches glucidiques que celles rompues par la glucosidase β . C'est ainsi que l'on trouve souvent du rhamnose dans ces holosides.

C. CHARAUX a utilisé la rhamnodiastase pour hydrolyser le rutoside [165], le datiscoside [166], M. BRIDEL pour dédoubler le gentiacauloside [113] et le monotropitoside [108].

L'emploi de ces ferments est calqué sur la méthode de recherche des hétérosides par l'émulsine avec quelques différences de détails, notamment dans l'interprétation des résultats. Les holosides obtenus ont, en effet, des propriétés optiques et des pouvoirs réducteurs très différents de ceux du glucose.

En 1926, cette méthode avait permis de déceler la présence de tels hétérosides dans onze plantes appartenant à sept familles différentes. On avait en outre extrait deux nouveaux hétérosides : le polydatoside et l'ulexoside.

Tout récemment, Mlle BOURDOUIL [31] a montré qu'il serait possible d'étudier et de rechercher, d'une façon analogue dans les plantes, le maltose, en utilisant comme source fermentaire la poudre de pancréas. Il est intéressant d'employer ce complexe dans les cas où, après l'essai à l'invertine, l'émulsine et la rhamnodiastase n'ont pas eu d'action sur une solution dont la déviation polarimétrique est restée dextrogyre.

Nous avons utilisé, avec profit, cette méthode pour caractériser le maltose dans nos recherches et pour suivre ses variations annuelles dans les tubercules de la gesse tubéreuse.

Il faut cependant remarquer que l'action de la poudre de pancréas sur les extraits végétaux ne se limite pas à l'hydrolyse de certains glucides, mais qu'elle se porte également sur d'autres principes immédiats, puisqu'elle est douée non seulement du pouvoir amylolytique, mais aussi des pouvoirs protéolytique et lipasique. Nous avons remarqué précisément cette action dans nos expériences et tout une étude serait à faire à ce sujet.

Enfin la méthode biochimique a eu le précieux avantage de donner à Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL l'idée du pouvoir synthétisant de l'émulsine. Ce pouvoir n'est en réalité qu'une face de la question de la réversibilité des actions fermentaires entrevue par A. CROFT HILL en 1898.

Depuis 1912, année où parurent les premiers mémoires [50, 51, 52], de remarquables découvertes ont été faites. Sans entrer dans l'étude des différentes synthèses, il faut noter les rendements excellents (VERDON [371]) et l'application pratique de ces méthodes pour l'identification des oses dans les végétaux (BOURQUELOT et BRIDEL [57]). L'idée fut étendue aux travaux de pharmacie galénique (BRIDEL [96, 103], ARNOULD [1]), à la recherche de la maltase dans le malt (BRIDEL [112]) et à l'étude des pectines (CHARPENTIER [163]).

Par la réversion enzymatique, on arrivait ainsi, non seulement à la synthèse de nombreux hétérosides, mais à celle des holosides dont le premier type obtenu fut le gentiobiose (BOURQUELOT, HÉRISSEY et COIRRE [81]).

A notre connaissance, il n'a pas encore été tenté de synthèse fermentaire à l'aide de la rhamnodiastase en partant non plus de sucres simples, mais de bioses ou de trioses libérables par le ferment des *Rhamnus* ; il est permis d'espérer que ces essais seront possibles à l'avenir.

§ II. — Obtention des glucidases utilisées dans nos expériences.

Les procédés que nous avons employés pour préparer les ferments sont ceux de BOURQUELOT, plus ou moins modifiés par ses élèves.

Nous avons tenu à les conserver, afin de rester dans des conditions expérimentales semblables et pour obtenir des produits analogues, de composition relativement constante.

On sait, en effet, que les glucidases utilisées actuellement sont loin d'être pures. Les déceptions expérimentales éprouvées par différents biochimistes ont montré que, loin d'être des corps définis, les éléments de ces enzymes, notamment l'azote, le soufre et les cendres variaient dans de larges limites avec le mode d'isolement.

En fait, on ne peut définir ces glucidases que par la manière dont elles agissent sur les corps qu'elles sont capables de modifier. C'est uniquement par leur présence, à des doses excessivement faibles, qu'on observe la transformation de grandes quantités de substances, sans altération marquée du ferment. Des recherches récentes de M. BRIDEL et N.-J. JOANID [152] ont montré que l'émulsine possédait en quelque sorte une puissance illimitée.

Depuis les premiers travaux de BOURQUELOT, de réels progrès ont été réalisés dans les techniques de purification des ferments. On est arrivé, en perfectionnant les méthodes, à préparer, par précipitations successives, par dialyse simple ou électrique, par adsorption, des poudres d'une activité surprenante et qui ne donnent plus les réactions des glucides, ni celles des protéines et des purines. Néanmoins, tous ces produits renferment encore une forte proportion de matières étrangères.

Il convient de mentionner à l'avant-garde des savants qui ont contribué au développement de ces méthodes, WILLSTÄTTER qui, par ses procédés d'adsorption et d'élu-tion élective, est parvenu à éliminer de certains ferments toute trace de glucide et de protide, comme c'est le cas pour la sucrase [389].

1° OBTENTION DE L'INVERTINE, SOURCE DE SUCRASE.

L'invertine, préparée pour la première fois, en 1860, par BERTHELOT [7], peut être obtenue relativement pure, en partant de levure haute très fraîche, dite « des boulangers ».

La levure ancienne renferme, en effet, d'autres ferments tels que l'amygdalase (BOURQUELOT et HÉRISSEY [79]), l'amylase et la maltase (E. FISCHER [214]).

Pour sa préparation, nous avons suivi le procédé indiqué par BOURQUELOT [40] :

La levure est soigneusement délayée au mortier dans de l'alcool à 95°, puis laissée en contact 24 heures avec dix fois son poids d'alcool fort. Le produit est ensuite recueilli, essoré à la trompe sur un entonnoir de BÜCHNER, lavé sur le filtre à l'alcool à 95°, puis à l'éther et enfin desséché dans le vide sulfurique.

Nous avons pu remarquer que l'invertine obtenue se présentait sous un plus bel aspect et se conservait mieux si l'on établissait un vide plus poussé à l'aide d'une machine pneumatique. Dans ce cas, la poudre finale prend une teinte blanc crème et devient excessivement légère ; il est préférable de la conserver en flacons paraffinés, et à l'abri de la lumière.

Selon MEYER [306], le maximum d'activité diastasique de cette préparation serait vers 31°. A notre avis, d'après des observations corroborées d'ailleurs par celles d'un grand nombre d'auteurs, la température optimum dépend surtout de la façon dont a été préparé le complexe fermentaire. Elle croît jusqu'aux environs de + 55°. La réaction qui convient le mieux correspond à un $\text{pH} = 5$, mais on peut opérer en milieu neutre ou légèrement acide, même en présence de sel neutre, contrairement à ce qui se passe pour l'hydrolyse acide (COLIN et LEBERT [187]).

Certains auteurs, notamment H. COLIN et ses élèves, utilisent comme source de sucrase, une solution obtenue en abandonnant à la putréfaction, de la levure, à la température de 20° environ. Il se produit une autolyse très rapide, que l'on arrête avant que la réaction du milieu ne soit devenue alcaline. Les liqueurs filtrées sont traitées avec ménagement par l'acétate neutre de plomb et conservées, sous toluène, comme source fermentaire. Elles possèdent l'inconvénient de diluer les liquides d'essai, et

l'action diastasique s'atténue d'autre part plus rapidement que chez l'invertine préparée par le procédé de BOURQUELOT.

Si l'on désirait une sucrase très active, on pourrait employer la méthode de NELSON et BORN [313]. Ces auteurs partant d'un autolysat de levures filtré, le précipitent par de l'alcool fort. Ils reprennent le précipité par l'eau, défèquent la solution obtenue par l'acétate de plomb et éliminent le plomb du filtrat par l'oxalate de potassium.

La liqueur filtrée est traitée à plusieurs reprises par du kaolin, dialysée en sac de collodion et finalement précipitée par l'alcool en présence de trace de chlorure de sodium. Le rendement est faible, mais on obtient une sucrase très active et très pure.

Enfin, si l'on veut obtenir une sucrase encore plus pure, on utilisera, en partant des liqueurs diastases précédentes, les méthodes de WILLSTÄTTER basées sur la dialyse ou l'adsorption.

Ce savant traite l'autolysat de levure en présence d'acétone par du kaolin pulvérisé, de façon à obtenir une liqueur acétonique à 40 p. 100 et à éliminer ainsi les matières protéiques après un repos de 12 heures. Il fixe ensuite le ferment sur une suspension d'alumine hydratée à raison de 53 g.,5 de ce produit pour 13 l.,5 de liquide. Cette suspension est lavée, puis séparée par centrifugation et l'enzyme est finalement récupéré par solubilisation dans 1700 cm³ d'eau légèrement ammoniacale (5 g.,5 d'ammoniaque à 10 p. 100). Sous l'action de l'ammoniaque, l'invertine passe en solution. Celle-ci est essorée, concentrée à 40 cm³ sous pression réduite et à 25°, puis précipitée à 0° par de l'acétone refroidi, en égal volume. Le produit granuleux, brun, obtenu, est séparé par centrifugation, puis lavé à l'acétone froid.

La purification peut être achevée par remise en solution du ferment et nouvelle adsorption sur du kaolin. Le rendement est de 1 g.,40 d'invertine très active pour 13 l. 5 d'autolysat.

Constitution et spécificité de la sucrase.

Dans les recherches concernant la sucrase, les seuls renseignements d'ordre chimique qu'on ait pu entrevoir sur ce ferment, sont : une fonction pseudo-aldéhydrique ressemblant à celle des aldoses, un groupement basique et une sorte de fonction acide. Tout cela n'est pas défini et il est évident que les essais chimiques trop violents, utilisés couramment dans les laboratoires, devront être profondément modifiés pour étudier la constitution de cet enzyme.

Jusqu'en 1920, la spécificité de l'invertine semblait bien établie par son action spéciale sur le saccharose libre ou combiné, comme nous l'avons montré en exposant les méthodes biochimiques. Cette action a déjà été bien étudiée : En présence de saccharose, l'enzyme paraît donner instantanément un complexe transitoire de nature inconnue, complexe qui se décomposerait ensuite. On aurait ainsi différents stades dans l'hydrolyse du sucre.

C'est en essayant sa solution de sucrase sur un extrait aqueux de topinambour que COLIN remarqua des phénomènes d'hydrolyse qui lui parurent anormaux. Dès lors, en poursuivant ces recherches, des faits nouveaux vinrent modifier l'idée que l'on pouvait se faire de la spécificité de l'invertine ou du moins de son ferment connu, la sucrase.

H. COLIN [181], en 1920, étudiant l'action de l'autolysat de levure sur les satellites de l'inulinoholoside (inuline), le pseudo-inulinoholoside (pseudo-inuline), l'hélianthénoholoside (hélianthénine) et le synanthroholoside (synanthrine) (1), remarqua l'action hydrolysante du ferment sur ces deux derniers holosides.

Dès cette époque, on put se demander, non sans raison,

(1) Les termes cités ci-dessus, sont conformes aux décisions adoptées, sur l'initiative de M. le Professeur Gabriel BERTRAND, par la Commission de Réforme de la Nomenclature de Chimie biologique (A. DE CUGNAC [193], p. 67).

si l'hydrolyse de ces produits était le fait d'un enzyme spécial ou s'il devait être rapporté à la sucrase, considérée jusque là comme spécifique du saccharose. La liste des corps tributaires de l'invertine ne comptait à ce moment que des polyholosides : saccharose, gentianose, raffinose, stachyose, verbascose, auxquels le ferment arrache l'unique molécule de fructose qu'ils renferment en se portant sur la liaison glucose-fructose.

Fallait-il adjoindre à ces corps des fructosides, tels que le synanthroholoside de composition fort différente, puisqu'il contient, d'après TANRET, cinq molécules de fructose pour une molécule environ de glucose ?

Certains objectèrent que la source de sucrase employée n'était pas la levure des boulangers tuée à l'alcool [35], mais un autolysat de levure [180] et qu'il était logique de rechercher si cet autolysat ne renfermait pas d'autres ferments hydrolysants que la sucrase de l'invertine.

L'objection fut de courte durée. Dès 1929, P. GILLOT et E. LEGRAS [224] confirmèrent l'identité d'action de l'invertine de BOURQUELOT, par hydrolyse du synanthroholoside et de l'hélianthénoholoside retirés du *Petasites officinalis* Moench.

Entre temps d'ailleurs, les élèves de COLIN avaient poursuivi ces études. Ils remarquèrent que, non seulement le synanthroholoside et l'hélianthénoholoside étaient hydrolysés, mais que le ferment agissait sur d'autres fructoholosides et sur un glucoholoside : le laminaroholoside (laminarine).

Successivement, on a trouvé de nouveaux glucides tributaires de l'invertine.

AUGEM [2], en 1927, a montré l'action de cet enzyme sur le fructoholoside sans nom de l'*Iris foetidissima*. DE CUGNAC [193], en 1930, a confirmé cette action sur plusieurs fructoholosides retirés des Graminées :

1° le graminoholoside (graminine de V. HARLAY [253] du tubercule de l'avoine à chapelets. *Arrhenatherum bulbosum* Presl.).

2° le triticoholoside (triticine de MÜLLER [312] des rhizomes de chiendent rampant, *Agropyrum repens* P.B.).

3° le phléoholoside (phléine d'EKSTRAND et JOHANSON [206] des pseudo-bulbes de la phléole, *Phleum pratense* L.).

4° deux fructoholosides sans nom, l'un de l'orge bulbeuse. (pseudo-bulbes d'*Hordeum bulbosum* L.), l'autre de l'oyat des sables (rhizomes de *Psammia arenaria* R et S.).

5° enfin, un fructoholoside de la trainasse (stolons d'*Agrostis alba* L.).

Toutes ces actions ont été obtenues en employant, soit une solution fermentaire préparée par autolyse suivant la méthode de H. COLIN [180], soit un macéré de poudre d'invertine ou levure tuée par l'alcool suivant la méthode de BOURQUELOT [35]. NEYRON [315], sur l'asphodélohotoside, confirma le phénomène.

Doit-on admettre que l'invertine contient une diastase s'attaquant spécialement aux fructoholosides ? Mais pourquoi son activité se porterait-elle sur le synanthroholoside qui renferme du glucose dans sa molécule, tandis que les fructoholosides que nous venons de citer ne renferment que du fructose ?

Il serait possible également que l'action hydrolysante vienne de la sucrase ! Que reste-t-il alors, de la notion devenue classique de la spécificité de ce ferment, établie par E. FISCHER [215] pour la liaison glucose-fructose ?

L'hydrolyse qui a paru la plus étonnante, est celle du laminaroholoside (laminarine du *Laminaria flexicaulis*) étudiée par RICARD [335, 188]. Ce corps ne fournit que du glucose sous l'action enzymatique, c'est donc un glucoside. L'auteur s'est posé la même question que COLIN. Quel ferment peut provoquer la scission de cet oside, puisqu'il n'y a pas ici de fructose et qu'on admettait jusque là, que la sucrase se porte uniquement sur la liaison glucose-fructose ?

Comme d'autre part, tous les produits fermentaires

hydrolysant le laminaroholoside dédoublent le saccharose, existerait-il à côté de la sucrase, une laminarosidase qu'on ne pourrait mettre en évidence qu'en séparant les deux actions fermentaires ?

Selon COLIN [183], on serait contraint d'admettre, au voisinage de la sucrase, non seulement une ou plusieurs fructosidases, mais encore une glucosidase d'un genre spécial à l'usage du laminaroholoside. Le problème, comme on peut en juger, ne se simplifie pas.

Si on l'envisage au point de vue de la méthode biochimique de BOURQUELOT, il faut remarquer que l'action de l'invertine n'est plus aussi délimitée et qu'elle paraît bien moins spécifique que son auteur ne se l'imaginait tout d'abord.

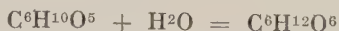
Les observations faites au polarimètre dans l'examen des solutions extractives soumises à l'action de l'invertine peuvent, par analogie, se comparer aux transformations produites par l'émulsine.

En effet, jusque là, les mouvements optiques se manifestaient toujours dans un même sens. Le synanthroholoside et les fructoholosides sous l'action enzymatique n'ont pas modifié ces caractères, on observe encore un retour de la déviation de la droite vers la gauche. Il est facile de calculer les indices de réduction qui sont des chiffres précis situés aux environs de 1000.

Le fait, que nous qualifierons d'exceptionnel, est produit par l'action de l'invertine sur le laminaroholoside. Ce glucide lévogyre ($[\alpha]_D = -11^\circ$) fournit au polarimètre le phénomène inverse de ceux que nous venons de signaler :

En examinant en lumière polarisée une solution à ving pour cent, par exemple, de cet holoside, on observe une déviation : $\varphi = -0^\circ,44$.

Après action du ferment, l'hydrolyse produit une libération de glucose :



soit 2 g.,222 pour cent, qui se traduit par une déviation dextrogyre $\varphi = +2^\circ,33$.

Le changement de rotation a donc bien lieu vers la droite, avec un indice de réduction enzymolytique de 802.

Toutes ces données nouvelles permettent d'expliquer d'une façon plausible, les résultats parfois extraordinaires signalés dans certains essais biochimiques et qui se révèlent par l'élévation anormale des indices.

Sur ces actions, deux hypothèses ont été émises :

1° l'invertine, par analogie à l'émulsine, est un mélange de plusieurs ferments (sucrase, fructosidase, laminarosidase, etc...).

2° la sucrase ne serait pas entièrement spécifique de la liaison glucose-fructose et il faudrait poursuivre l'étude des groupements moléculaires, tributaires de son action.

2° PRÉPARATION DE L'ÉMULSINE.

Ce produit fermentaire, encore appelé synaptase, fut découvert en 1837, par LIEBIG et WÖHLER [391], dans les amandes ; il est formé d'un mélange de plusieurs ferments, (BOURQUELOT et HÉRISSEY [73]), dont nous donnerons la liste chronologique de découverte. Ces ferments sont variables suivant les modes de préparation ; on y trouve surtout l'émulsine proprement dite ou glucosidase β . Le produit renferme toujours de faibles quantités de sucrase.

Nous avons adopté, pour sa préparation, la technique de HÉRISSEY [257], avec les modifications proposées par G. DE ST-STÉBAN [201], et BÉGUIN [4]. Le procédé repose sur la précipitation du ferment, d'une macération aqueuse d'amandes douces, par addition d'alcool éthylique à 95°. On élimine au préalable, la caséine par l'acide acétique. Nous avons opéré sur un important lot d'amandes, afin d'obtenir, en quantité suffisante, un produit fermentaire identique pour tous nos essais biochimiques :

Les amandes douces sont plongées, par fractions de

250 g., une minute dans l'eau bouillante, essorées, trempées rapidement dans l'eau froide, puis mondées immédiatement ; la pellicule s'enlève très facilement. On les écrase soigneusement au hachoir universel, plus rapide que le mortier, puis on met le tout à macérer dans deux fois son poids d'eau chloroformée demi-saturée.

Nous avons employé la méthode de BÉGUIN, qui laisse la macération se prolonger pendant 48 heures ; le rendement est notablement augmenté en émulsine sans nuire à l'activité du ferment.

Le mélange est ensuite passé à travers une toile à trame assez serrée. Le liquide laiteux obtenu, abandonne sa caséine, par addition d'acide acétique.

La proportion d'acide peut varier d'une préparation à l'autre ; en général, la précipitation est obtenue avec 16 à 20 cm³ d'acide acétique cristallisable, pour le solution aqueux provenant du traitement de deux kgs d'amandes (3000 cm³ environ). Après dépôt de trois ou quatre heures, pour obtenir une décantation facile, on filtre sur un filtre mouillé.

Le filtrat est précipité par addition de trois volumes d'alcool à 95°. Un repos de 12 heures suffit pour clarifier le liquide surnageant. On le décante pour la récupération de l'alcool et le précipité est versé sur un large entonnoir de BÜCHNER.

Nous avons préféré, pour notre part, la filtration sur filtre ordinaire mouillé, ce qui évite le colmatage. L'essorage demande généralement 12 heures. Le précipité resté sur le filtre, est lavé d'abord à l'alcool à 95°, puis à l'éther. On le sèche alors comme l'invertine. La quantité obtenue est de 15 g. environ par kg. d'amandes. Exceptionnellement, en partant d'amandes italiennes de qualité supérieure, nous avons pu constater un rendement plus important, dépassant 20 g. par kg.

Dans nos dernières expériences, en raison du prix élevé de la matière première et de la consommation considérable d'émulsine, nous avons utilisé pour préparer

le ferment, le procédé mis au point par M. BRIDEL et Mlle M. DESMARET [145, 146, 147] qui emploient le tourteau d'amandes amères relativement bon marché. On lixivie ce tourteau par environ cinq fois son poids d'alcool à 70° qui élimine les sucres et l'amygdaloside. Le résidu est séché à l'étuve, puis mis à macérer pendant 48 heures dans quatre fois son poids d'eau distillée toluénée. Après ce temps, on exprime, filtre la colature, et, sur le liquide obtenu, on continue les opérations indiquées dans la préparation précédente : élimination de la caséine par l'acide acétique, filtration et précipitation de l'émulsine par l'alcool. Toutefois, il est intéressant de remarquer que le coagulum produit par l'addition d'acide acétique est beaucoup plus compact ; par suite la décantation est immédiate et la filtration en est grandement facilitée. L'émulsine préparée par ce procédé est notablement plus colorée que le produit obtenu par la méthode de HÉRISSEY.

Le rendement est moitié moindre ; rien ne permet d'ailleurs d'expliquer cette différence, car le tourteau représente environ le double de son poids d'amandes et ces dernières donnent 14 g. d'émulsine par kg.

On pourrait toutefois remarquer, que ce fait tient peut être, à la nature des amandes douces qui renferment toujours plus d'émulsine que les amandes amères.

Dans un travail sur la préparation de l'émulsine, M. BRIDEL et R. ARNOLD [121] ont essayé divers agents de précipitation pour remplacer l'alcool éthylique. De ces essais, il résulte qu'en employant l'alcool méthylique ou l'acétone, on obtient un produit fermentaire possédant sensiblement les mêmes propriétés que l'émulsine ordinaire. Ces auteurs ont montré d'autre part, qu'en prolongeant le contact de l'émulsine fraîchement précipitée avec le liquide dans lequel était effectuée la précipitation, on pouvait préparer une poudre fermentaire débarrassée de certaines diastases, notamment de la sucrase. Cette action éliminatrice avait déjà été signalée par Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL en 1914 [55] et par MOUGNE en 1918 [310].

Le pouvoir fermentaire de l'émulsine semble se conserver indéfiniment, d'après les travaux de M. BRIDEL et Mlle DESMARET [148]. Néanmoins, leurs recherches ont indiqué pour quelques ases du complexe, une diminution d'activité [149].

Constitution et spécificité de l'émulsine.

Voici, d'après M. BRIDEL (1), la liste des ases signalées dans l'émulsine des amandes :

I. HÉTÉROSIDES.

A. Oses.

a) *glucose.*

- 1° glucosidase β (1837) [391] (émulsine proprement dite)
LIEBIG et WÖHLER.
- 2° salicase (1909) [353] W. SIGMUND.
- 3° arbutase (1909) [353] W. SIGMUND.

b) *galactose.*

- 4° galactosidase β (1917) [309] G. MOUGNE.

c) *mannose.*

- 5° mannosidase α (1921) [265] H. HÉRISSEY.

d) *arabinose.*

- 6° l-arabinosidase α (1926) [123] M. BRIDEL et C. BÉGUIN.

B. Diholosides.

a) *amygdalose.*

- 7° amygdalinase (1911) [16] G. BERTRAND et A. COMPTON.

b) *vicianose.*

- 8° vicianosidase (1911) [23] G. BERTRAND et G. WEISWEILLER.

c) *primevèrose.*

- 9° primevérosidase β (1925) [117] M. BRIDEL.

II. HOLOSIDES.

A. Dihexoses.

a) *diglucose.*

- 10° gentiobiase (1902) [74] Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY.

(1) Cours du laboratoire de Physique végétale du Muséum d'Histoire Naturelle.

- 11° amygdalase (1907) [159] CALDWELL et COURTAULD.
12° cellase ou cellobiase (1910) [49] G. BERTRAND et H. HOLDERER.

b) digalactose.

- 13° galactobiase β (1916) [43_a] Em. BOURQUELOT.

c) glucogalactose.

- 14° lactase (1891) [243] Em. FISCHER.
15° mélibiase (1907) [314] C. NEUBERG.

d) glucofructose.

- 16° sucrase (1903) Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY.

B. Pentohexoses.

- 17° vicianase (1911) [23] G. BERTRAND et G. WEISWEILLER.
18° primevèrase (1925) [416] M. BRIDEL.

C. Trihexoses

- 19° manninotriase (1909) [376] C. VINTILESCO.

En ce qui concerne les différentes ases contenues dans l'émulsine des amandes, nous nous permettrons de faire une réserve sur l'absence de la maltase. Dans toute notre étude, nous avons constaté, en effet, chez certaines émulsines, la présence de ce ferment, mais d'une façon trop inconstante pour que nous puissions généraliser notre observation. L'action hydrolysante est d'ailleurs excessivement lente. A notre avis, il serait nécessaire, dans l'étude des végétaux renfermant du maltose, de vérifier préalablement l'action de l'émulsine d'amandes et peut-être plus particulièrement, de l'émulsine de tourteau d'amandes amères, sur cet holoside.

Nous voyons, d'après le tableau précédent, la complexité de ce produit fermentaire et sa spécificité limitée, par suite de son action hydrolysante sur de nombreux glucides (holosides et hétérosides).

Il apparaît néanmoins, dans la méthode biochimique, comme le réactif idéal d'un certain groupe d'hétérosides qui sont tous lévogyres et fournissent du *d*-glucose par hydrolyse diastasique : Ce sont les glucosides β .

Nous indiquerons d'ailleurs, dans l'emploi de la méthode à l'émulsine, les précautions qu'il est utile de prendre pour conserver à ce ferment toute sa spécificité.

3° PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DES POUDRES FERMENTAIRES.

Les plantes renferment, en général, les enzymes susceptibles d'hydrolyser les glucides qui leur sont propres. Parfois, les ascs sont fixées d'une façon si énergique dans les cellules, que, même en épuisant les plantes par l'eau, la liqueur obtenue ne renferme pas trace de ferments.

Pour observer l'action enzymatique, il faut alors utiliser les tissus pulvérisés, épuisés à l'alcool et desséchés dans le vide. La poudre obtenue est mise ensuite en suspension dans l'extrait fluide végétal, pour étudier ou rechercher les principes glucidiques.

Nous avons adopté pour la préparation de ces ferments le mode opératoire de E. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [75] avec la modification de J. CHEYMOL [173, p. 10] :

Un poids connu de plante nettoyée, lavée et essuyée si ce sont des racines, est passé au hachoir universel, puis traité par trois fois son volume d'alcool à 90° dans un flacon bouché hermétiquement. On a soin d'agiter le tout fréquemment. Après quarante-huit heures de contact, onessore sur un entonnoir de BÜCHNER et on lixivie la masse végétale avec six fois son poids d'alcool fort.

La poudre bien épuisée, est alors portée à l'air libre pendant une journée, puis séchée, durant vingt-quatre heures, à l'étuve à 37° ou dans le vide sulfurique.

C'est avec un produit ainsi préparé et contenant la géosidase, qu'HÉRISSEY et CHEYMOL ont pu hydrolyser le géoside.

L'inconvénient du procédé réside dans le volume assez considérable occupé par la poudre fermentaire. On a

voulu y remédier en tentant l'extraction du ferment sous une forme plus condensée. Il suffit pour cela de faire une macération aqueuse de la poudre, de filtrer et de précipiter les ases du filtrat au moyen d'alcool. Par ce mode opératoire, on retrouve, malgré tout, les inconvénients déjà signalés précédemment ; les ferments obtenus sont finalement inactifs ou si peu actifs, qu'il faut se résigner à employer la poudre elle-même.

4° PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DE LA RHAMNODIASTASE.

La rhamnodiastase est un produit fermentaire extrait des graines de divers *Rhamnus*, mais plus spécialement des graines du *Rhamnus utilis* Dcne (C. CHARAUX [165]).

Déjà signalé par W. STEIN [354], ce complexe fut surtout utilisé comme produit fermentaire par C. et G. TANRET [359], en 1899. La méthode d'obtention la plus récente et la meilleure, est due à M. BRIDEL et C. CHARAUX [138]. Nous l'avons appliquée sans modification pour nos préparations :

Les graines du *Rhamnus utilis* Dcne, de préférence à celles du *Rhamnus Frangula* L. et du *Rhamnus cathartica* L. qui donnent un ferment moins actif, sont broyées au moulin. Après tamisage, on élimine la plus grande partie de l'épisperme, d'allure coriace et brunâtre. L'amande blanchâtre, qui renferme le ferment, est recueillie, puis pulvérisée très finement. Le produit gras obtenu, est épuisé ensuite à l'éther, dans le but d'enlever une forte proportion d'huile ainsi que la matière colorante renfermée dans l'épisperme qui a pu passer au tamisage. On effectue alors une macération de la poudre déshuillée dans quatre fois son poids d'eau distillée thymolée durant douze heures. Après expression et filtration, le liquide limpide est additionné de quatre fois son volume d'alcool à 95° qui précipite la rhamnodiastase.

Celle-ci est recueillie sur un filtre, lavée avec le mélan-

ge alcool-éther, puis séchée, soit sur des plaques de verre légèrement chauffées, soit dans l'étuve à 30° ou dans le vide sulfurique. Le produit final, pulvérisé, se présente sous la forme d'une poudre jaune clair, qui se conserve, comme tous les ferments, à l'abri de l'air et de l'humidité, en flacons paraffinés.

Le rendement, d'après les auteurs, serait assez élevé : 250 g. de graines de *Rhamnus utilis* Dcne, donneraient 160 g. d'amandes brutes, 96 g. d'amandes déshuilées et 17 g. de poudre fermentaire. Pour notre part, nos extractions n'ont jamais dépassé la moitié du chiffre indiqué précédemment. Peut-être opérons-nous sur des graines relativement anciennes ?

L'intérêt de ce complexe fermentaire est de ne produire qu'une hydrolyse partielle chez certains hétérosides à polyholoside et de laisser ainsi plusieurs molécules d'oses combinés, sous forme de di ou de triholosides. La rhamnodiastase se différencie donc nettement de l'émulsine, qui ne dédouble pas ces corps et ne s'attaque, en général, qu'aux hétérosides du *d*-glucose β . Elle semble par contre moins spécifique.

§ III. Traitement des plantes étudiées.

Il convient de fixer, d'une façon définitive, la composition chimique du végétal, en stabilisant la plante fraîche le plus rapidement possible après sa récolte. On sait, en effet, que les ferments contenus dans les tissus ont une action hydrolysante immédiate sur les principes glucidiques, comme l'ont montré les belles recherches de GUIGNARD.

La stabilisation peut s'opérer de différentes manières. Si l'on veut conserver la plante à l'état sec, on emploiera le procédé PERROT-GORIS [319] aux vapeurs d'alcool ou le procédé VARCOVICI [368] à l'acétylène. Si l'on ne recherche que les principes immédiats, il suffit de préparer un extrait fluide par le procédé de BOURQUELOT.

Dans ce cas, le végétal préalablement bien nettoyé, essuyé, puis grossièrement divisé, est projeté, par petites portions, dans de l'alcool bouillant ou dans de l'eau bouillante. La colature obtenue contient tous les principes glucidiques inaltérés.

Il y aurait intérêt à éviter la section et la contusion préalable du matériel avant la stabilisation. On éliminerait ainsi la production des réactions fermentaires annexes, résultant de la coexistence des osides avec leurs ferments spécifiques.

Ces précautions peuvent être prises quand on possède, au laboratoire, un appareil perfectionné comme celui de E. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [78].

Lorsqu'on effectue la stabilisation, on a toujours préconisé d'additionner préalablement l'alcool d'une légère quantité de carbonate de calcium, destiné à saturer les acides végétaux qui peuvent agir à chaud sur les glucides. On doit également observer ce détail quand, par distillation dans le vide, on passe insensiblement d'un milieu alcoolique en milieu aqueux.

Toutefois, A. DE CUGNAC [193], en ce qui concerne les racines, juge inutile, en général, ces précautions. Selon lui, non seulement les organes souterrains ont ordinairement une réaction voisine de la neutralité ($\text{pH} = 5,8 \rightarrow 6$), mais la présence constante, à côté des acides libres, de leurs propres sels alcalins (COLIN et CHAUDUN [185], COLIN et BELVAL [184]), leur enlève pratiquement tout pouvoir hydrolysant. H. COLIN [182], a bien étudié la question. On peut citer à l'appui de ces opinions l'exemple de la diffusion industrielle des cossettes de betterave, qui dure près d'une heure aux environs de $+ 80^\circ$. Elle s'effectue sans aucune addition de neutralisant, et l'on sait avec quel soin doit être évitée en sucrerie toute inversion du saccharose.

D'après E. BOURQUELOT et M. BRIDEL [53], c'est dans un alcool titrant environ 60° que la destruction des ferments et l'extraction simultanée des glucides s'obtient le mieux.

On parvient du reste à ce titre, grâce à la dilution de l'alcool fort par l'eau contenue dans les tissus végétaux.

Enfin, on ne saurait trop insister sur la nécessité d'opérer le traitement des plantes fraîches à la température d'ébullition du solvant. Il peut arriver, en effet, qu'en un instant très court, le ferment libéré et non détruit, exerce son action sur les glucides de la plante.

Nous avons signalé ce cas dans l'étude de l'arbutoside de la gesse noire. H. HÉRISSEY [272] cite également le fait suivant :

« J'ai appris à mes dépens la nécessité de se mettre soigneusement en garde contre une telle cause d'insuccès, lorsque je poursuivais les recherches qui devaient me conduire à l'obtention du prulaurasoside, glucoside cyanhydrique des feuilles de Laurier Cerise (1905) ; certains essais, au cours desquels les feuilles avaient été projetées dans de l'alcool n'ayant pas encore atteint sa température d'ébullition, me fournirent des liqueurs présentant une odeur intense d'acide cyanhydrique et d'aldéhyde benzoïque, desquelles il me fut impossible d'extraire la moindre trace d'hétéroside, générateur de ces deux principes ».

Certains, pour opérer plus économiquement, remplacent l'alcool par l'eau bouillante comme agent stabilisateur. Ce liquide présente l'avantage d'être ininflammable, mais ses inconvénients sont nombreux. Les solutions extractives renferment en effet, des substances telles que : gomme, amidon, dextrine, mucilage, pectine, très-génantes ultérieurement et qui ne seraient pas passées dans l'alcool. Enfin, l'hydrolyse des principes glucidiques sous l'influence de la chaleur, a moins de chance de s'effectuer en milieu alcoolique qu'en milieu aqueux.

Quoi qu'il en soit, dès que la plante est plongée dans le liquide stabilisateur bouillant, l'appareil est relié à un réfrigérant ascendant. On maintient l'ébullition trente minutes environ.

Après refroidissement, la liqueur est décantée, le végétal égoutté, puis broyé au hachoir universel. Toutes

ces opérations doivent se faire minutieusement, sans perdre d'extrait glucidique. Le marc obtenu est alors remis avec la colature dans le récipient qui a servi à la stabilisation, on lave à l'alcool tous les ustensiles : hachoir, entonnoir, capsule. Le liquide de lavage est ajouté à la solution extractive contenue dans le ballon. On renouvelle l'ébullition, toujours à reflux, pendant vingt minutes. L'opération terminée, le tout est agité après refroidissement, puis versé sur une toile placée au dessus d'un vase de grandes dimensions. On essore le résidu et les liqueurs sont réunies.

Trois opérations identiques avec du nouvel alcool permettent d'épuiser complètement le marc. Le résidu final est alors passé à la presse et toutes les solutions alcooliques sont mélangées, puis filtrées.

On élimine ensuite l'alcool, après une nouvelle addition de carbonate de calcium, par distillation au bain-marie, à une température inférieure à 50° et en s'aidant du vide.

En suivant ces prescriptions minutieuses, on peut être certain que tous les principes glucidiques, solubles dans l'alcool, sont passés dans l'extrait. On reprend ce dernier par de l'eau distillée thymolée, de manière à obtenir un rapport déterminé entre le volume de la solution et la quantité d'organe traité. Pour tous nos essais, nous sommes parti d'un extrait fluide dont 1 cm³ correspondait à 1 g. de plante fraîche.

L'essai biochimique se fait généralement en solution aqueuse, l'invertine étant moins active en solution alcoolique et l'émulsine pouvant provoquer, en ce dernier milieu, des osides synthétiques.

Dans le cas où la solution finale n'a pas été préparée avec de l'eau thymolée, il est nécessaire d'ajouter pour 100 cm³ de liquide, 0 cm³,5 de toluène. Ce corps a pour but d'empêcher, dans ce milieu tout à fait favorable, l'action des microorganismes sur les glucides, l'antiseptique ne gênant nullement les phénomènes diastasiques.

§ IV. — Emploi général des méthodes.

Technique préliminaire.

La solution extractive est laissée en repos vingt-quatre heures après sa préparation ; on note la formation des dépôts ou les cristallisations.

Un volume connu de liquide est ensuite déféqué au sous-acétate de plomb, dans une proportion telle qu'il n'y ait qu'une trace de métal en excès. Il est facile ensuite, de calculer la quantité d'extrait de Saturne nécessaire pour clarifier une prise d'essai de solution.

Après précipitation plombique et filtration, la liqueur limpide obtenue est examinée au polarimètre pour déterminer son pouvoir rotatoire, puis traitée par la méthode de BERTRAND [13] pour le dosage de ses matières réductrices. Ce procédé, trop connu pour que nous le décrivions ici en détails, repose sur un principe publié autrefois par MOHR [308]. Il consiste à traiter un précipité d'oxydure cuivreux, obtenu par action des matières réductrices sur une solution cuivrique, au moyen d'une solution acide de sulfate ferrique. L'oxydure se dissout à l'état de sulfate de cuivre, tandis qu'une proportion correspondante de sel ferrique passe à l'état de sel ferreux. On dose ce dernier sel par le permanganate de potassium et il est facile, d'après la quantité de fer trouvée équivalente au cuivre précipité par les produits réducteurs, de calculer ces derniers.

En ce qui concerne le mode opératoire, nous renvoyons aux ouvrages de G. BERTRAND, P. THOMAS [21] et de DENIGÈS [200], qui décrivent entièrement cette méthode. Les résultats sont exprimés en cuivre et des tables donnent les poids correspondants des divers oses et osides. Afin de faciliter les calculs par interpolation, nous employons au laboratoire, le tableau différentiel de H. GOLLAN [229].

Usage des ferments.

Le liquide extractif à étudier, est additionné de un g. pour cent d'invertine, puis agité avec quelques gouttes de toluène.

Il est nécessaire de faire agir comme premier ferment l'invertine, puisqu'il a été démontré que l'émulsine obtenue en partant des amandes ainsi que la rhamnodiastase, contenaient des traces de sucrase.

Le flacon renfermant la solution fermentaire est alors placé à l'étuve à $+ 30^{\circ}$ - 32° pendant quelques jours (au moins trois jours) pendant lesquels on peut suivre l'action enzymatique. Il faut avoir soin d'agiter le flacon de temps en temps, pour bien mettre en contact la sucrase et la solution étudiée.

L'essai est arrêté quand, à deux jours d'intervalle, les résultats polarimétriques et chimiques restent identiques. En général, nous avons laissé pendant cinq jours nos solutions à l'étuve ; après ce temps, l'action hydrolysante était complètement terminée.

Pour garantir les recherches, il vaut mieux employer des flacons très propres, stérilisés à l'étuve et des bouchons de liège fin, neufs. Comme contrôle, nous avons toujours fait un essai témoin, préparé avec du liquide extractif simplement toluéné qui, dans les mêmes conditions expérimentales, ne doit subir aucune modification.

L'action de l'invertine achevée, l'activité fermentaire est détruite, en chauffant le flacon soigneusement clos, pendant quinze minutes, à la température du bain-marie bouillant.

Le liquide refroidi est filtré, puis additionné, dans la proportion de 0 g.50 pour cent, d'émulsine d'amandes et de toluène. On replace le mélange à l'étuve en l'agitant quotidiennement. Il faut suivre chaque jour, après défécation préalable, l'action fermentaire par le polarimètre et par le dosage des sucres réducteurs, jusqu'à résultats constants.

L'action de l'émulsine est plus lente que celle de l'invertine ; elle est souvent terminée en quelques jours, mais elle peut parfois durer des mois, par suite de la présence de substances retardatrices telles que les tanins (Mlle FICHTENHOLZ [210, 212]). Dans ce cas, il est préférable de renouveler fréquemment le ferment ou de déféquer préalablement les solutions.

L'hydrolyse enzymatique achevée, on détruit les diastases, comme précédemment, en immergeant le flacon durant quinze minutes dans un bain-marie bouillant. On filtre à froid. Après action de l'émulsine, on fera agir, suivant les cas, soit la rhamnodiastase, dont l'action est en général terminée après deux ou trois jours, à la dose de 0 g.05 à 0 g.10 pour 100 cm³ de solution, soit la poudre fermentaire de la plante étudiée, dans la proportion de un g. pour cent.

Ces deux complexes peuvent être utilisés directement après l'action de l'invertine.

Dans nos recherches personnelles, par suite de la présence de maltose dans les organes de réserve de la gesse tubéreuse, nous avons appliqué, l'un des premiers, la méthode de Mlle BOURDOUIL, à la poudre de pancréas, pour étudier les variations de cet holoside.

L'action diastasique est toujours suivie de la même façon, par la détermination des indices de réduction enzymolytique.

§ V. — Interprétation des résultats.

1° ACTION DE L'INVERTINE.

Lorsque l'action de l'invertine provoque une augmentation des produits réducteurs accompagnée d'un recul polarimétrique vers la gauche, c'est que la solution contient un ou plusieurs osides hydrolysables par le ferment.

Ce peut être du saccharose ou des sucres renfermant dans leur molécule du fructose lié au glucose.

Si ce sont des osides dont les constantes physiques et chimiques sont connues, l'hydrolyse fermentaire, lorsqu'ils se trouvent seuls, permet souvent de les caractériser. Le changement de déviation polarimétrique observé correspond toujours, en effet, à la même quantité de sucre réducteur formé (exprimé en glucose) ; le rapport de ces deux dosages pour un volume déterminé de la solution examinée restera constant. C'est ce que BOURQUELOT avait appelé l'indice de réduction enzymolytique [41] ; nous en avons déjà donné la définition (1).

En prenant l'exemple du saccharose, dont l'indice est 603, tout calcul fournissant un résultat voisin de ce chiffre, indiquera, sauf dans des cas spéciaux, à peu près sûrement, la présence de cet holoside dans les solutions examinées. Il suffit ensuite, pour terme de contrôle, de vérifier si les changements optiques observés, coïncident avec ceux qu'indique le calcul, en considérant le sucre réducteur formé comme étant du sucre interverti ou du glucose.

Toutefois, nous avons vu précédemment que certains glucides, ne rentrant pas dans ces catégories, peuvent cependant subir l'action de l'invertine.

En ce qui concerne ces fructoholosides, nous n'avons encore que peu de données sur la détermination de leurs constantes. Il est fort possible que les indices très élevés qui ont été signalés dans différents travaux, proviennent de l'hydrolyse de ces principes. Leur mode d'extraction différant sensiblement de celui des osides dérivés du saccharose, ils peuvent, en dehors de l'essai, passer inaperçue.

En présence de ces corps, il est nécessaire de modifier légèrement la méthode biochimique. A. DE CUGNAC [193] se sert, pour utiliser l'invertine, dans l'étude des glucides des Graminées, de précautions particulières, déjà

(1) Voir p. 36.

employées d'ailleurs, pour séparer l'action de la rhamniodiastase de celle de la glucosidase β . Le procédé repose sur le fait que la sucrase hydrolyse très rapidement le saccharose et beaucoup plus lentement les fructoholosides. On détermine préalablement l'activité de la sucrase, par le temps qui lui est nécessaire, pour réaliser l'hydrolyse complète du saccharose d'une solution de concentration voisine de celle des extraits végétaux étudiés. On laisse ensuite en contact avec le ferment, les liquides à essayer, un temps suffisant, déterminé précédemment, pour le dédoublement. Il faut y ajouter une heure supplémentaire par prudence (en général, cinq à six heures environ). On arrive ainsi à séparer les actions diastasiques qui se portent d'une part sur le saccharose et d'autre part sur les fructoholosides.

Quoi qu'il en soit, toutes ces propriétés nouvelles ont mis à l'ordre du jour la question de l'identité diastasi-que de l'invertine.

2° ACTION DE L'ÉMULSINE.

En présence d'un hétéroside dérivant du glucose β et dédoublable par l'émulsine, on observe, dans la solution étudiée, une augmentation du pouvoir réducteur et cette fois un retour de la déviation polarimétrique vers la droite. Il faut se rappeler, en effet, que tous les hétérosides, actuellement connus, hydrolysables par la glucosidase β , sont lévogyres. Les composés de pouvoir rotatoire gauche seront, après hydrolyse, remplacés par des produits optiquement inactifs et des produits dextrogyres dérivant du glucose *d*.

L'essai biochimique donnera donc avec l'émulsine, pour un hétéroside dissous dans un volume donné de solution, un indice particulier, qui fournira une indication approximative sur la nature du produit. Cette constante permettra d'autre part, de déterminer la proportion en oside de la plante si l'hydrolyse est totale et

si le corps a déjà été étudié. L'intérêt de cet indice réside dans ce que sa constatation n'exige pas la séparation préalable de l'hétéroside.

On a depuis longtemps établi, théoriquement et pratiquement, pour les hétérosides de poids moléculaire et de constitution bien déterminés, les indices de réduction enzymolytique (BOURQUELOT [38, 39]). On considère le corps dissous dans 100 cm³ de solution.

Le calcul simplifié est le suivant :

Soit M le poids moléculaire de l'hétéroside, α_M son pouvoir rotatoire spécifique et g le poids de glucose-d fourni par l'hydrolyse totale d'une molécule de produit.

Pour un corps ne donnant, par dédoublement, qu'un seul principe réducteur, le glucose par exemple, il se formera, pour une molécule en solution aqueuse, un poids g de ce sucre, que l'on exprimera en milligrammes, soit 100 g.

La rotation initiale de l'hétéroside sera dans ces conditions $\frac{\alpha_M M l}{100}$ et pour $l = 2$ $\frac{2 \alpha_M M}{100}$.

Après dédoublement, la déviation deviendra $\frac{2 \alpha_G g}{100}$ et si l'on prend $\alpha_G = + 52^{\circ},5$ nous aurons :

$$\frac{2 \alpha_G g}{100} = \frac{105 g}{100}$$

Le changement de rotation polarimétrique total correspond à la somme de la déviation gauche initiale et de la déviation droite finale :

$$\frac{2 \alpha_M M}{100} + \frac{105 g}{100}$$

Le poids g. de glucose étant constant ainsi que le volume de la solution essayée et le retour polarimétrique observé, il est évident qu'en calculant la quantité de sucre réducteur formé pour un retour de 1°, on obtiendra une constante que BOURQUELOT a désigné sous le nom

d'indice de réduction enzymolytique et qui s'exprime par la formule classique.

$$I. \text{ Enz} = \frac{10,000 \text{ g.}}{2 \alpha_M M + 105 \text{ g.}}$$

Une remarque toutefois s'impose :

Certains hétérosides, comme le verbénalosite (BOURDIER [30]) ou l'unédosite (M. BRIDEL et C. BOURDOUIL [126]), sont réducteurs par eux-mêmes. D'autres, comme l'arbutoside, donnent naissance, par hydrolyse, non seulement à du glucose, mais à des produits réducteurs non glucidiques.

Dans ces cas, il est encore possible de calculer l'indice, à condition cependant de connaître les pouvoirs réducteurs des osides et ceux des produits de dédoublement, pris en bloc ; en retranchant le premier résultat du second, on aura le poids des composés réducteurs exprimés en glucose, correspondant au retour polarimétrique observé. Il est facile ensuite d'établir ce qui équivaut à un degré de retour.

Lorsque les hétérosides viennent seulement d'être isolés et ne sont pas connus, l'expérimentation seule peut fournir l'indice. On prépare une solution d'un poids donné de produit, dont on détermine la déviation polarimétrique et le pouvoir réducteur si c'est nécessaire ; on ajoute alors de l'émulsine et, après hydrolyse, on répète les mesures précédentes, à condition toutefois de connaître également les pouvoirs réducteurs des produits de dédoublement. Un calcul identique au précédent donnera la constante cherchée.

C'est ainsi que, dans les feuilles de *Lathyrus niger* Bernh., la détermination de l'indice de réduction enzymolytique nous a permis, même avant l'isolement de l'hétéroside, d'être à peu près certain que nous avions affaire à l'arbutoside. Cette identification provisoire fut d'ailleurs confirmée par l'extraction et l'étude ultérieure du produit.

Il est nécessaire, dans cette action fermentaire, de pré-

senter quelques réserves. On sait que l'émulsine des amandes est un mélange de plusieurs ferments dont nous avons donné la liste. Ces ferments peuvent porter leur action, après l'essai à l'invertine, sur des holosides non hydrolysés. La sucrase agit bien sur des glucides complexes tels que le stachyose, le raffinose et le gentianose, mais elle ne provoque qu'une hydrolyse partielle de ces principes ; c'est l'émulsine des amandes qui achève de scinder, par sa manninotriase, sa mélibiase, sa gentiobiase, les produits de dédoublement précédents en leurs oses constituants.

Pratiquement, en présence du stachyose et du raffinose, sous l'action de l'émulsine, il se produira une augmentation des sucres réducteurs de la liqueur essayée, la rotation va continuer à se propager vers la gauche, comme dans le cas de l'invertine. On peut remarquer, en effet, l'apparition de sucres plus réducteurs, mais doués d'un plus faible pouvoir rotatoire dextrogyre. Ce fait explique facilement la progression constante de la déviation dans un même sens. Par cette observation, on est ainsi parvenu à caractériser, puis à isoler le stachyose et le raffinose dans de nombreuses plantes. Nous signalerons plus particulièrement, les études de HÉRISSEY et LEFÈVRE sur le *Taxus baccata* [276] ; de BOURQUELOT et BRIDEL [47] sur les graines d'*Erythrina fusca* Lour. et d'*Entada Scandens* Benth., de J. VINTILESCO [378] sur les Jasminées, de R. SIBASSIÉ [351] et de nous-même sur les graines de Légumineuses. Tout récemment encore, P. GILLOT et Mlle MORISOT [227] viennent d'isoler le raffinose du *Geranium pratense* L.

Dans le cas où l'on a simultanément hétéroside et holoside dédoublables par l'émulsine, il est difficile de tirer une conclusion des phénomènes observés, car les changements de déviation de signes contraires vont se masquer. Quelquefois, par un heureux concours de circonstances, l'hydrolyse de l'hétéroside est plus rapide que celle de l'holoside (VINTILESCO [378]) ; on pourra noter ainsi un retour vers la droite suivi immédiatement d'un recul vers la gauche.

Un cas particulier concerne également le gentiobiose, premier terme de l'hydrolyse par la sucrase du gentianose. Ce diholoside réducteur, de faible pouvoir rotatoire, sous l'action de la gentiobiase de l'émulsine, se double en sucre plus réducteur, doué d'un pouvoir rotatoire plus élevé. Le changement de rotation se fait exceptionnellement vers la droite. Dans de telles conditions, la détermination des glucides par l'indice de réduction enzymolytique, sans extraction préalable, devient presque impossible. L'essai biochimique n'est alors qu'un complément d'information.

3° ACTION DE LA RHAMNODIASTASE.

On fait agir généralement la rhamnodiastase, complexe fermentaire encore peu étudié, sur les solutions extractives après action de l'invertine. Cette précaution est indispensable, car la sucrase existe à l'état de trace, aussi bien dans l'émulsine que dans le ferment des *Rhamnus*. Une observation constante est nécessaire durant cet essai, habituellement très court. En effet, de nombreux glucides touchés par la rhamnodiastase sont peu solubles dans l'eau ou précipitables par extrait de Saturne, ils peuvent être entraînés à la défécation. Le pouvoir rotatoire de l'hétéroside n'intervient donc pas dans la déviation observée avant hydrolyse. Après l'action fermentaire, le changement de rotation porte uniquement sur le sucre formé et ne provient pas, comme avec l'émulsine, de l'ose réducteur dextrogyre libéré, qui a remplacé l'hétéroside lévogyre.

Les corps tributaires de la rhamnodiastase renferment dans leur molécule, en dehors de la partie non glucidique, non plus un seul ose, mais un holoside complexe formé lui-même de deux ou trois oses. Le ferment est assez spécifique pour n'hydrolyser que l'hétéroside sans toucher à l'holoside formé. On est ainsi parvenu à la découverte de plusieurs glucides jusque là inconnus (rutinose, robinose).

Les odeurs qui se dégagent après hydrolyse et les précipités formés dans les flacons d'essais doivent être notés très exactement. D'autre part, lorsqu'on étudie un hétéroside hydrolysable par l'émulsine, les proportions de ce corps sont nettement indiquées dans l'essai, par suite du retour à droite des solutions lévogyres. Il n'en est plus de même pour les glucides complexes que la rhamnodiastase met en liberté. Ceux-ci n'ont souvent que de faibles propriétés optiques et sont moins réducteurs que le glucose (primevèrose, rutinose). Parfois même, ils sont lévogyres (rhamninoïse). Il ne sera par suite plus possible, comme dans la méthode de BOURQUELOT, de connaître rapidement la teneur des plantes en hétérosides. On doit, au préalable, tenter l'extraction de ces produits.

Dans le procédé à l'émulsine, dès que le glucose formé atteint 0 g.30 p. 100, on a de fortes chances d'extraire l'hétéroside, en admettant que le sucre réducteur apparû, représente 60 p. 100 de l'oside.

Avec la rhamnodiastase, l'extraction est toujours possible, même s'il ne s'est formé qu'une très faible quantité de matières réductrices. Cela tient à ce que le ferment libère des di ou des triholosides, réduisant seulement comme la moitié ou comme le tiers de leur poids de glucose. C'est ainsi qu'on a pu extraire, malgré les chiffres insignifiants donnés par les essais biochimiques, deux hétérosides : le polydatoside avec un retour polarimétrique de 22' correspondant à la formation de 0 g.119 de sucre réducteur exprimé en glucose, et l'ulexoside avec un retour de 20' correspondant à la formation de 0 g.115 de sucre réducteur exprimé en glucose.

L'action simultanée de la rhamnodiastase et de l'émulsine sur quelques osides peut paraître embarrassante.

BÉGUIN [4] a noté le phénomène sur le polydatoside et nous avons remarqué le fait sur l'arbutoside.

Il est possible d'éviter cet écueil, en observant que l'action de la diastase est beaucoup plus rapide que celle

de l'émulsine et qu'elle est, en général, terminée en quarante-huit heures.

D'autre part, il ne faut pas oublier que le ferment des graines de *Rhamnus* s'emploie dans les proportions de 0 g.05 à 0 g.10 pour 100 cm³ de solution. A cette dose, on peut le considérer comme très peu actif sur les hétérosides dédoublables par l'émulsine.

La méthode à la rhamnodiastase, encore récente, puisqu'elle ne date que de 1925, a été mise au point par M. BRIDEL et C. CHARAUX [138]. Il est permis d'espérer, par analogie avec les méthodes de BOURQUELOT, qu'elle réservera aux chercheurs d'intéressantes découvertes.

De nombreux ferments, dont les actions hydrolysantes rappellent, d'assez près, les propriétés du complexe des *Rhamnus*, ont d'ailleurs été déjà utilisés. Il suffit de citer la vicianinase de G. BERTRAND et WEISWEILLER [23], la géosidase de BOURQUELOT et HÉRISSEY [75], pour se rendre compte du vaste champ d'investigation qui reste encore à parcourir.

4° ACTION DE LA POUDRE DE PANCRÉAS.

L'usage de la poudre de pancréas pour la recherche du maltose, dans les solutions extractives privées préalablement d'amidon, est d'une utilisation toute récente. Ce complexe fermentaire, employé d'une façon analogue aux méthodes précédentes, scinde le maltose en deux molécules de glucose. Personnellement, nous nous sommes servi de cet enzyme après action de l'invertine, de l'émulsine et de la rhamnodiastase. Son étude est loin d'être achevée. Nous avons remarqué son inactivité sur le saccharose, le raffinose, le stachyose ; des expériences sont en cours pour le mélibiose et le manninotriose.

Signalons toutefois, que BIERRY [25], dans ses recherches sur le suc pancréatique, a montré que ce produit restait sans action vis-à-vis du raffinose et du mélibiose. Il faut surveiller attentivement les processus fermentai-

res de la poudre de pancréas dans les solutions extractives ; des substances non glucidiques, actives sur la lumière polarisée, semblent, en effet, tributaires de l'action protéolytique de ce complexe.

Conclusion.

En résumé, si l'emploi de ces différents procédés peut prêter à quelques critiques, il faut reconnaître que les diastases, en tant que réactifs de laboratoire, rendent d'éminents services. Les méthodes biochimiques sont à la portée de tous et constituent une technique simple et rapide. Il convient de faire remarquer, d'autre part, que la seule recherche par les ferments n'a jamais suffi pour identifier les osides dans un milieu végétal. Les biochimistes ne se sont permis de conclure, qu'après l'extraction des glucides à l'état cristallisé.

La valeur d'une méthode peut se mesurer à ses résultats. Ce sont précisément ces derniers que nous avons essayé de condenser, de notre mieux, dans le chapitre qui va suivre.

CHAPITRE III.

Résultats obtenus par l'application des méthodes biochimiques.

Dans le but de faciliter les recherches bibliographiques, il nous a paru intéressant de rassembler les découvertes successives faites depuis 1901, grâce aux méthodes biochimiques. C'est de cette époque, en effet, que datent les beaux travaux de BOURQUELOT.

En 1913, M. BRIDEL a condensé dans sa thèse de Sciences naturelles [99], les résultats acquis. En 1926, BÉGUIN a relaté très succinctement, dans un travail pharmaceutique [4], les plus récentes découvertes. Nous nous sommes efforcé de mettre au point cette question pour 1933.

GLUCIDES.

Pour permettre la compréhension de notre texte, nous avons tenu à donner préalablement la classification des glucides, telle qu'elle a été établie d'après les décisions adoptées par la Commission de Réforme de la Nomenclature de Chimie biologique.

Classification des glucides (d'après les décisions adoptées par les conférences de l'Union internationale de la Chimie pure et appliquée) (1).

Glucides ..		- 75 -	
Oses (Sucres réducteurs non hydrolysables)			
		 aldoses, ex. :	Pentose..... ex. : arabinose Hexose..... ex. : glucose Hexose..... ex. : fructose
Oxides (Sucres hydrolysables en oses accompagnés ou non d'autres substances		 cétoles, ex. :	Hexose..... ex. : fructose
		di-holosides ...	{ non réducteur. ex. saccharose réducteur ex. : gentiobiose
	I. Holosides donnant uniquement des oses par hydratation	tri-holosides ...	{ non réducteur. ex. : gentianose réducteur ex. : mannitriose
		tétra-holosides non réducteur ...	ex. : stachyose
	II. Hétérosides donnant par hydrata- tion des oses accompagnés de substances non glucidiques	polyholosides	ex. : amidon
		mono-di et tri-hétérosides.....	(très nombreux) (arbutoside - primevéroside - robinoside, etc...).

(1) Les désinences de ces glucides sont d'accord avec les décisions adoptées, sur l'initiative de M. le professeur Gabriel BERTRAND, par la Commission de Réforme de la nomenclature de Chimie biologique. (BRIDEL [115], BERTRAND [15]). Nous avons récemment résumé cette réforme [303].

Classification des glucides.

Les glucides ont été divisés en deux groupes : les *oses* et les *osides*.

Les *oses* comprennent tous les sucres simples réducteurs, qu'il s'agisse de l'arabinose ou du rhamnose, du glucose ou du galactose, du fructose (nom actuel du lévulose) ou du sorbose. Pour ces corps, on retrouve ensuite la nomenclature habituelle avec ses divisions en aldoses et en cétooses. Le second groupe ou *osides* désigne les glucides donnant, par hydrolyse complète, un ou plusieurs oses, accompagnés ou non d'autres substances.

Ces conventions sont simples et faciles à retenir.

Les osides sont subdivisés à leur tour en *holosides* et en *hétérosides*.

Les *holosides* comprennent les osides qui, par hydrolyse totale ne fournissent que des molécules du groupe des oses ; ils sont divisés en di-, tri-, tétra-, polyholosides, suivant le nombre des oses qu'ils forment.

Les *hétérosides* correspondent aux anciens glucosides. Ils donnent par hydrolyse totale en même temps que des oses une ou plusieurs molécules différentes.

Pour mieux comprendre cette classification, nous l'avons représentée par le tableau ci-contre (v. p. 75).

Voici, d'autre part, quelle serait la correspondance des noms nouveaux et des noms anciens :

Noms nouveaux :

Noms anciens :

Glucides	Hydrates de carbone, hydrocarbones.
Oses	Monosaccharides, monoses, glucoses.
Osides	Pas d'équivalent.
Holosides	Saccharides, polyoses, sucres hydrolysables.
Hétérosides	Glucosides.

OSIDES { I. Holosides.
II. Hétérosides.

Cette étude porte uniquement sur les osides et les tableaux que nous avons dressés ne concernent que les glucides étudiés par les méthodes biochimiques.

I. Holosides.

Les glucides, figurant dans le tableau suivant, sont des polyholosides qui résultent de la soudure de n molécules de monoses avec élimination de $n-1$ molécules d'eau. Par hydrolyse, ils ne fournissent que des oses. Nous y trouvons des diholosides, des triholosides, des tétraholosides.

Les acides rendent comme agents hydrolysants, pour l'étude de ces sucres, quelques services, mais leur action est bien trop radicale, ce qui les rend peu maniables. Au contraire, le clivage obtenu par les ferments se fait dans un ordre beaucoup plus déterminé, les ases agissant comme réactifs spécifiques des groupements d'atomes par stades successifs. La désagrégation du polyholoside demande par suite autant de ferments moins un que le corps renferme de molécules de monose (BOURQUELOT [36]).

Toutefois, comme l'a fait remarquer M. BRIDEL [105] au sujet de la réversibilité des actions fermentaires, il résulte que l'isolement d'un sucre des produits d'hydrolyse d'un composé connu, ne peut constituer, *à priori*, la preuve de l'existence de ce sucre dans le composé étudié.

Le meilleur exemple que nous puissions donner, est la transformation de structure du fructose dans le dédoublement du saccharose. Cette modification ne se signale d'ailleurs par aucun signe extérieur,

I. **Holosides** (étudiés ou découverts grâce aux méthodes biochimiques.)

Holosides	Plantes	Année	Auteurs	Formule	Pouv. rotat. $[\alpha]_D$ (sol. aqueuse)	ind. de réduction	Références
Saccharose	Connu de temps immémorial	1832	WIGGERS	$C^{12}H^{22}O^{11}$	+ 66°, 5	603	(BOURQUELOT [37])
Trehalose.	Seigle ergoté	1847	DUBRINFALT	$C^{12}H^{22}O^{11} \cdot 2 H_2O$	+ 176°, 3		[387]
Maltose.	inconnue (1)	1901	BOURQUELOT et HERUSSEY	$C^{12}H^{22}O^{11}$	+ 130° + 9°, 8	275 478	[203] [70]
Mélibiose.	inconnue	1889	SCHIEBLER et MITTELMEIER	$C^{12}H^{22}O^{11} \cdot 2 H_2O$	+ 129°, 64	254	[346]
Primevèrose ...	inconnue	1912	GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC	$C^{14}H^{26}O^{10}$	— 3°, 79		[239]
Rutinosse.	inconnue	1924	CHARAUX	$C^{12}H^{22}O^{10}$	— 10° (alc. à 95°)		[165]
Vicianose.	inconnue	1911	BERTRAND et WEISWEILLER	$C^{14}H^{26}O^{10}$	+ 39°, 72		[22-23-24]
Gentianose.	Gentiane jaune	1882	MEYER	$C^{18}H^{32}O^{16}$	+ 34°, 50	673	[305]
Raffinose.	Maïs d'Eucalyptus d'Australie	1843	JOHNSTON	$C^{18}H^{32}O^{16} \cdot 5 H_2O$	+ 104°	610 à 630	[282]
Mannitolriose.	inconnue	1903	C. TANRET	$C^{18}H^{32}O^{16}$	+ 167°	389	[360]
Khamminosse ...	inconnue	1899	C. et G. TANRET	$C^{18}H^{32}O^{14}$	— 41°		[358-359]
Robinosse.	inconnue	1926	CHARAUX	$C^{18}H^{32}O^{14}$	+ 1°, 94		[169]
Stachyose.	Crosnes du Japon	1890	VON PLANTA et SCHULZE	$C^{24}H^{42}O^{24} \cdot 4 H_2O$	+ 132°, 75	548	[380]
Verbascose.	Bouillon blanc	1910	BOURQUELOT et BRIDEL		+ 169°, 9 (anhydre)	441	[49]

(1) Les osides signalés comme inconnus, à l'état libre, dans les plantes proviennent, par hydrolyse diastasique, de glucides végétaux plus complexes.

Constitution des holosides précédents.

di-holoside	non réducteur....	{ saccharose..... tréhalose	(fructose + glucose) (glucose + glucose)
	réducteur.....	{ maltose..... gentiobiose..... mélibiose..... primévèrose..... rutinose..... vicianose.....	(glucose + glucose) (glucose + glucose) (glucose + galactose) (glucose + xylose) (glucose + rhamnose) (glucose + arabinose)
tri-holoside	non réducteur....	{ gentianose..... raffinose.....	(fructose + gentiobiose) (fructose + glucose) (glucose + mélibiose) (glucose + galactose)
	réducteur.....	{ manninotriose.... rhamninose..... robinose.....	(glucose + glucose + galactose) (rhamnose + rhamnose + galactose) (rhamnose + rhamnose + galactose)
tétra-holoside	non réducteur....	{ stachyose..... verbascose.....	(fructose + manninotriose) (galactose + galactose + glucose) (fructose + triose non défini)

Etude des holosides.

Dans la classification de ces différents holosides, nous nous sommes essentiellement placé au point de vue fermentaire, sans insister sur le côté purement chimique.

Nous les avons rangés en deux groupes :

1° *Les holosides existant à l'état naturel dans les plantes et facilement décelables, grâce aux méthodes biochimiques* (saccharose, tréhalose, gentianose, raffinose, stachyose, verbascose, maltose).

2° *Les holosides non identifiés à l'état naturel chez les végétaux, mais dérivant par hydrolyse de glucides naturels et étudiés par voie biochimique.*

Ils proviennent :

a) *d'holosides* (gentiobiose, mélibiose, manninotriose).

b) *d'hétérosides* (primevèrose, rutinose, vicianose, rhamninoase, robinose).

Nous ne ferons pas mention, dans ce classement, des corps sur lesquels on a récemment noté l'action de l'invertine. Leur étude biochimique est trop incomplète pour être rapportée ici (synanthroholoside, hélianthénoholoside, laminaroholoside, fructoholosides divers).

1^{er} Groupe. — *Holosides naturels des plantes, facilement décelables par les méthodes biochimiques.*

(Saccharose, gentianose, raffinose, stachyose, verbascose, tréhalose, maltose).

Le tréhalose et le maltose mis à part, l'invertine agit sur cette série d'holosides, en libérant le fructose du reste de la molécule sucrée, comme elle libère le fructose du glucose, dans son action sur le saccharose. On peut admettre que dans tous ces holosides se trouve du saccharose combiné. Cette hypothèse s'est d'ailleurs trouvée vérifiée, par NEUBERG pour le raffinose [314] et, en 1920, par BOURQUELOT et BRIDEL pour le gentianose [59]. Le fructose se trouve ainsi séparé d'un complexe,

qui est lui-même un di ou un triholoside. Nous verrons que ce nouveau polyholoside formé peut être dédoublé, à son tour, par un autre ferment.

L'invertine, sans préjuger de ses autres propriétés, est réellement spécifique de ces holosides (BOURQUELOT [37, 71]), quand ils ne sont pas accompagnés de fructosides.

Quant au tréhalose, il n'a pour ferment spécifique que la tréhalase, extraite par BOURQUELOT [32] de l'*Aspergillus niger*, du *Penicillium glaucum* ou du malt vert.

Grâce aux méthodes biochimiques, certains de ces holosides, qui semblaient autrefois fort rares, ont été retrouvés fréquemment dans les végétaux.

C'est le cas du raffinose isolé successivement du *Taxus baccata* (HÉRISSEY et LEFÈVRE [276]), des graines d'*Entada Scandens* (BOURQUELOT et BRIDEL [47]) ; des graines de Légumineuses (R. SIBASSIÉ [351]), du *Geranium pratense* (P. GILLOT et Mlle MORISOT [227]).

Nous ferons la même remarque pour le stachyose, bien étudié au point de vue fermentaire par VINTILESCO [376]. Cet auteur a retiré cet oside des Jasminées [375] ; il paraît, d'autre part, commun dans la famille des Labiées (PIAULT [321, 322, 323]). Nous venons de déceler la présence de ce sucre dans les graines des diverses espèces de *Lathyrus* que nous avons analysées.

En ce qui concerne le maltose, sa recherche biochimique dans les végétaux est de date beaucoup plus récente. C'est en effet R. FRANQUET [217], en 1932, puis nous-même, qui avons étudié pour la première fois ce glucide à l'aide de la poudre de pancréas, suivant le procédé préconisé par Mlle BOURDOUIL [31].

Le maltose avait déjà été extrait du *Mercurialis perennis* L. par P. GILLOT [221] et de l'*Umbilicus pendulinus* D. C. par M. BRIDEL [110] ; mais ces auteurs avaient décelé la présence de ce sucre indirectement et sans utiliser l'hydrolyse fermentaire.

Il est permis d'espérer que l'emploi méthodique de la poudre de pancréas facilitera la recherche de cet holo-

side qui nous semble plus répandu qu'on ne le croit, dans le règne végétal.

2^e Groupe. — Glucides }
dérivant } a) d'holosides naturels ;
b) d'hétérosides naturels.

a) *Holosides dérivant d'holosides naturels plus complexes.*

(Gentiobiose, mélibiose, manninotriose) (1).

L'invertine n'a pas d'action sur ces holosides. L'émulsine, par contre, les scinde en leurs oses constituants, car elle renferme de la gentiobiase, de la mélibiase et de la manninotriase.

En dehors de leur préparation à l'aide des ferments, ces sucres n'ont pas encore été isolés à l'état libre du règne végétal.

b) *Holosides dérivant d'hétérosides naturels plus complexes.*

(Primevèrose, rutinose, vicianose, rhamninoase, robinose) (1).

Les hétérosides dont ils dérivent peuvent se classer de la façon suivante :

		fournissant par hydrolyse :	
Hétérosides	Hétérobiosides	Primevérosides {	Primevèroside
			Primulavèroside.....
			Gentiacauloside....
			Monotropitoside.....
			Rhamnicoside.....
	Rutinosides...	{	Rutoside
			Datiscoside.....
	Vicianosides..	{	Vicianoside.....
			Géoside.....
			Violutoside (?).....
Hétérotriosides	Rhamnicoside..	Xanthorhamnoside..	du rhamninoase
	Robinoside...	Robinoside	du robinose

(1) Voir p. 78 et 79.

Tous ces sucres, obtenus par hydrolyse ménagée au moyen des acides ou par le mode fermentaire, sont réducteurs.

Les procédés biochimiques, et plus particulièrement la méthode à la rhamnodiastase, ont été d'un grand secours pour l'identification et l'extraction de ces glucides. Certains mêmes n'étaient pas connus avant l'utilisation du ferment des *Rhamnus*.

II. Hétérosides.

Les hétérosides sont des principes immédiats, très répandus dans les végétaux, susceptibles de se dissocier sous diverses influences, pour donner naissance, d'une part, à un ou plusieurs sucres, d'autre part, à un ou plusieurs corps pouvant présenter les fonctions chimiques les plus diverses (phénol, alcool, éther, aldéhyde, etc...). Le seul caractère commun réside dans la production d'une ou de plusieurs matières sucrées parmi leurs produits de décomposition.

Dans l'étude de ces composés naturels, on rencontre des corps dont l'étude et même la caractérisation sont encore très incomplètes. Les termes du dédoublement les mieux identifiés sont, en général, les oses et les holo-sides. Ce sont d'ailleurs les plus faciles à caractériser. Il y a cependant quelques exceptions et les sucres de plusieurs hétérosides sont encore à déterminer. Cela tient, plus particulièrement, à la complexité de ces glucides, très sensibles aux réactifs chimiques et enzymatiques.

Les hétérosides ont peu de propriétés communes : Ils se présentent cristallisés, plus rarement amorphes, incolores ou de coloration jaune.

Leurs propriétés physiques sont essentiellement variables de l'un à l'autre. Toujours actifs sur la lumière polarisée, ils sont lévogyres et de saveur amère prédominante. FISCHER a montré qu'ils représentaient les éthers oxydes des aldoses et des céto-ses. Rarement réducteurs, ils le deviennent après hydrolyse.

L'isolement des hétérosides date du commencement du XIX^e siècle. L'honneur en revient à GMELIN et à VAUQUELIN qui, les premiers, identifièrent et isolèrent la daphnine [369]. Ce sont surtout les méthodes biochimiques qui ont permis, depuis plus de trente ans, de remarquables découvertes dans la connaissances des hétérosides.

Etude des hétérosides.

Les hétérosides étant extrêmement nombreux, nous n'avons pas jugé à propos d'établir un tableau récapitulatif. Ces corps seront répartis par groupes. Conformément à la nouvelle nomenclature, nous avons substitué, à la terminaison *ine* existante dans les anciens noms, la désinence *oside* [303].

Nous n'avons pas voulu dresser ici une classification des hétérosides, mais une simple liste chronologique, basée sur l'hydrolyse fermentaire.

Par analogie avec l'étude précédente des holosides, nous ferons trois groupes parmi les hétérosides découverts ou étudiés par les méthodes biochimiques.

1^o Hétérosides dérivant du d-glucose β , hydrolysables par l'émulsine des amandes.

a) découverts avant les méthodes biochimiques, mais étudiés depuis par ces méthodes.

b) découverts grâce aux méthodes biochimiques.

2^o Hétérosides hydrolysables par la rhamnodiastase.

3^o Hétérosides hydrolysables par la myrosine.

La plupart de ces hétérosides ont été retrouvés dans de nombreuses plantes, grâce aux méthodes biochimiques.

Il suffit, pour s'en convaincre, de se reporter aux mémoires relatifs aux hétérosides suivants :

Amygdaloside : (semences d'*Eryobotria japonica* Lindl, HÉRISSEY [260]).

Amygdonitrileglucoside ou prunasoside : (*Cerasus Padus* Delarb., HÉRISSEY [262] ; (*Photinia serrulata* Lindl, HÉRISSEY [264] ; jeunes pousses du Laurier cerise et du *Prunus spinosa*, CHARAUX [168]).

Prulaurasoside : (*Cotoneaster microphylla* Wall, HÉRISSEY [261]).

Syringoside : (diverses espèces de troène et de jasmin, J. VINTILESCO [373]).

Arbutoside vrai : (divers *Pirus*, BOURQUELOT et FICHTENHOLZ [63] ; *Pyrola rotundifolia*, A. FICHTENHOLZ [211] ; *Grevillea robusta*, BOURQUELOT et FICHTENHOLZ [67] ; diverses Ericacées, BOURQUELOT et FICHTENHOLZ [68] ; *Hakea laurina*, BOURQUELOT et HÉRISSEY [80] ; *Lathyrus niger*, MEUNIER [302].

Gentiopicroside (*Chlora perfoliata*, BOURQUELOT et BRIDEL [48] ; diverses Gentianées, BRIDEL [92-97-98-101].

Asébotoside : (*Kalmia latifolia*, BOURQUELOT et FICHTENHOLZ [65-66].

Picéoside : (*Amélanchier vulgaris*, BRIDEL, CHARAUX et RABATÉ [143-330] ; écorce de *Salix nigra*, BRIDEL et RABATÉ [155].

Méthylglucoside β : (*Dipsacus arvensis*, WATTIER [383].

Aucuboside : (divers plantains, L. BOURDIER [28] ; divers aucuba, LEBAS [291] ; divers garrya, HÉRISSEY et LEBAS [275] ; divers rhinanthes, mélampyres et autres Scrofulariacées, BRIDEL et BRAECKE, CHARAUX [127-128-129-130-132-131-133-164-89-88]).

Loroglossoside : (Orchidées, BRIDEL, CHARAUX et DELAUNEY [196-144-170-197-198-199]).

Aspéruloside : (Rubiacees, HÉRISSEY [270-271].

Toutes ces recherches montrent la difficulté de conclure à l'existence d'une harmonie constante, entre les caractères morphologiques et la composition chimique des végétaux.

En ce qui concerne notre travail, il est intéressant de signaler la dissemblance hétérosidique des trois espèces d'orobes indigènes que nous avons étudiées.

1°. Hétérosides dérivant du d-Glucose

a) *Hétérosides découverts avant les méthodes*

Ces glucides ont été isolés avant 1901. Em. BOURQUELOT, dès 1

Nous les avons classés, ci-ap

Nom des hétérosides	Auteurs	Plantes	AN
1. Salicoside (Salicine).	LEROUX	Ecorce de saule	1
2. Amygdalosite (ine)	ROBIQUET et BOUTRON, CHARLARD	Amandes amères	1
3. Aesculoside (ine)	MINOR	Ecorce d' <i>Æsculus Hippo-</i> <i>castanum</i> L.	1
4. Phlorizosite (ine) (*)	DE KONINCK	Ecorce de racines de pommier	1
5. Syringoside (ine)	BERNAYS	<i>Syringa vulgaris</i> L.	1
6. Méthylarbutoside (ine).	KAWALIER	Mélangés dans feuilles	1
7. Arbutoside (Arbutine)..		d' <i>Arctostaphylos</i> <i>Uva-ursi</i> .	
8. Coniféroside (ine).....	HARTIG	<i>Larix europæa</i> L.	1
9. Gentiopicroside (ine)...	KROMAYER	<i>Gentiana lutea</i> L.	1
10. Vicioside (Vicine).....	RITTHAUSEN	Semences de vesces	1
10 ^{bis} Salicinéréosite (ine)..	JACOBY	Ecorce <i>Salix Cinèrea</i> L.	1
11. Asébotosite (ine) (*)...	EYKMANN	<i>Andromeda japonica</i> Thumb	1
12. Picéosite (Picéine)....	Ch. TANRET	<i>Pinus excelsa</i> Link.	1
13. Amygdonitrileglucosi- de ou Prunasoside (Pru- nasine)	E. FISCHER H. HÉRISSEY	Préparé par synthèse et retrouvé dans <i>Cerasus</i> <i>Padus</i> DC.	1 1
14. Méthylglucoside β	VAN EKENSTEIN N. WATTIEZ	Préparé par synthèse et retrouvé dans <i>Scabiosa</i> <i>succisa</i> L.	1 1

(*) M. BRIDEL a démontré en 1930 l'hydrolyse par l'émulsine de ces deux hétérosides [120

solubles par l'émulsine d'amandes.

iques mais étudiés depuis par ces méthodes.

signalait 10 [42]. Ils sont actuellement au nombre de 14.

ordre chronologique.

Formule	Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ (solution aqueuse)	Indice de réduction	(Références)
$C_{43}H_{48}O_7$	— $64^\circ,9$	321	[296]
$C_{42}H_{27}NO_{11}$	— 39°	490	[342]
$C_{43}H_{46}O_9$	— 146° (alcool méthylique)		[307]
$C_{21}H_{24}O_{10}$	— $49^\circ,02$ (alcool à 50°)		[194]
$C_{47}H_{24}O_9$	— $17^\circ,1$	570	[6]
$C_{43}H_{48}O_7$	— $63^\circ,4$	326	{ 285 }
$C_{42}H_{46}O_7$	— 65°	700	
$C_{46}H_{22}O_8$	— $66^\circ,9$	278	[255]
$C_{46}H_{20}O_9$	— $200^\circ,9$	111	[287]
$C_{41}H_{46}N_4O_7$	— $8^\circ,77$		[336-337-338-339-340]
identifié par RABATÉ [331] en 1930 au picéoside			[281-331]
$C_{24}H_{28}O_{12}$	— $59^\circ,1$ (alcool à 50°)	225	[207]
$C_{44}H_{48}O_7$	— 84°	261	[356]
$C_{44}H_{47}NO_6$	— $26^\circ,9$	517	[214]
			[262]
$C_{7}H_{44}O_6$	— $32^\circ,06$	577	[366]
			[382]

b). Hétérosides découverts g

Le nombre des hétérosides découverts depuis 1901 ne cesse d'augmenter cha
par les méthodes biochimiques. Les voici résur

Nom des hétérosides	Auteurs	Plantes
1. Aucuboside (Aucubine)..	Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY	<i>Aucuba japonica</i> L.....
2. Sambunigroside (ine)	Em. BOURQUELOT et DANJOU	<i>Sambucus nigra</i> L.....
3. Prulauraroside (ine) .	H. HÉRISSEY	<i>Prunus Laurocerasus</i> L.
4. Jasminifloroside (ine)..	J. VINTILESCO	<i>Jasminum nudiflorum</i> Lin
5. Vicianoside (ine)....	G. BERTRAND	<i>Vicia angustifolia</i> All...
6. Bakankoside (ine)...	Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY	<i>Strychnos Vacacoua</i> Bail
7. Taxicatoside (ine)...	Ch. LEFÈVRE	<i>Taxus baccata</i> L.....
8. Verbénaloside (ine) .	BOURDIER	<i>Verbena officinalis</i> L...
9. Oleuropéoside (ine)..	Em BOURQUELOT et J. VINTILESCO	<i>Olea europaea</i> L.....
10. Erytaurosides (ine)...	H. HÉRISSEY et BOURDIER	<i>Erythraea Centaurium</i> Pe
11. Arbutoside vrai (ine)	Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ	<i>Pirus communis</i> var. cult
12. Méliatoside (ine) ou Loganoside [107]...	M. BRIDEL	<i>Menyanthes trifoliata</i> L.
13. Hépatriloboside (ine)	DELATRE	<i>Hepatica triloba</i> Chaix.
14. Géranylglicoside β..	Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL	<i>Pelargonium odoratissim</i>
15. Loroglossoside (ine)	Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL	<i>Loroglossum hircinum</i> R
16. Scabioside (ine)....	Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL	<i>Scabiosa succisa</i> L.....
17. Monotropéoside (ine)	M. BRIDEL	<i>Monotropa Hypopitys</i> L.
18. Aspéruloside.....	H. HÉRISSEY	<i>Asperula odorata</i> L. ...
19. Mélilotoside	C. CHARAUX	<i>Melilotus altissima</i> Thuil <i>Melilotus arvensis</i> Wa
20. Baillonioside.....	H. HÉRISSEY	<i>Baillonia spicata</i> H. Br
21. Géoside	H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL	<i>Geum urbanum</i> L.....
22. Salidroside	M. BRIDEL et C. BÉGUIN	<i>Salix triandra</i> L. ...
23. Polydatoside	C. BÉGUIN	<i>Polygonum cuspidatum</i> S et Zucc.....
24. Oroboside	M. BRIDEL et C. CHARAUX	<i>Orobis tuberosus</i> L.....
25. Unédoside.....	M. BRIDEL et C. BOURDOUIL	<i>Arbutus Unedo</i> L.....
26. Salipurposide.....	C. CHARAUX et J. RABATÉ	<i>Salix purpurea</i> L.....
27. Salireposide.....	N. WATTIEZ	<i>Salix repens</i> L.

(1) Les formules ou valeurs manquant dans ce tableau n'ont jamais été établies à notre connaissance

méthodes biochimiques.

ée. Nous nous bornerons à signaler ceux dont l'isolement a été facilité
ordre chronologique, dans le tableau suivant.

Année	Formule	Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ (solution aqueuse)	Indice de réduction	Références
1902	$C^{13}H^{19}O^8$	— $174^\circ, 2$	144	[72-74]
1905	$C^{14}H^{17}NO^6$	— $76^\circ, 3$	281	[60-61-192]
1906	$C^{14}H^{17}NO^6$	— 53°	359	[259]
1906		environ — 145°		[374]
1906	$C^{19}H^{25}NO^{10}$	— $20^\circ, 7$	505	[14]
1907	$C^{16}H^{23}NO^8$	— $206^\circ, 7$	108	[76]
1907	$C^{13}H^{22}O^7$	— $72^\circ, 9$	296	[292-293]
1908	$C^{17}H^{24}O^{10}$	— $180^\circ, 5$	19	[29-30]
1908		— $127^\circ, 9$		[82]
1908		— $131^\circ, 6$		[273]
1910	$C^{12}H^{14}O^7$	— 65°	700	[63]
1910	$C^{15}H^{22}O^9$	— $81^\circ, 96$	238	[93-95]
1912				[195]
1913				[54]
1919	$C^{30}H^{42}O^{18}$	— $45^\circ, 65$	357	[56]
1920		— $106^\circ, 52$	190	[58]
1923		— $130^\circ, 44$	161	[106]
1925		— $204^\circ, 4$		[268-269]
1925	$C^{15}H^{18}O^8$	— $68^\circ, 10$	284	[167]
1925				[267]
1925	$C^{21}H^{31}O^{11}$	— $53^\circ, 80$		[274]
1926		environ — $50^\circ, 5$	509	[125]
1925	$C^{20}H^{22}O^8$	— $63^\circ, 35$	860	[4-122]
1930	$C^{22}H^{20}O^{11}$	— $61^\circ, 29$	226	[140]
1930		— $112^\circ, 43$		[126]
1931	$C^{24}H^{22}O^{10}$	— $116^\circ, 87$	149	[171-172]
1931	$C^{20}H^{22}O^{10}$	— $36^\circ, 78$	722	[384]

2° Hétérosides hydrolysables

Voici par ordre chronologique, les hétérosides qui sont jusqu'à présent
de ces corps peuvent subir également l'action de l'émulsine, mais

a) Hétérosides découverts avant la méthode biochimique à la rhamnose

Nom des hétérosides	Auteurs	Plante	Année
1. Dastiscoside (ine)	BRACONNOT	<i>Datisca cannabina</i> L...	1816
2. Rutoside (ine)	A. WEISS	<i>Ruta graveolens</i> L.....	1842
3. Rutinoside (ine)	ZWFINGER et DRONKE	<i>Robinia pseudo Acacia</i> D. C.....	1861
4. Xanthorhamnoside (ine),	LIEBERMANN et HÖRMANN	<i>Rhamnus infectoria</i> L..	1879
5. Vicianoside (ine), ...	G. BERTRAND	<i>Vicia angustifolia</i> All..	1906
6. Primevèroside (ine)	GORIS et MASCRÉ	<i>Primula officinalis</i> Jacq.	1908
7. Primulavèroside (ine)...	GORIS et MASCRÉ	<i>Primula officinalis</i> Jacq.	1909
8. Gentiacauloside (ine)...	M. BRIDEL	<i>Gentiana acaulis</i> L....	1913
9. Monotropitoside (ine)...	M. BRIDEL	<i>Monotropa Hypopitys</i> L.	1923
10. Géoside (ine).... ..	HÉRISSEY et CHEYMOL	<i>Geum urbanum</i> L.....	1925

b) Hétérosides découverts ou étudiés

1. Rhamnicoside.	M. BRIDEL et C. CHARAUX	<i>Rhamnus cathartica</i> L.	1925
2. Polydatoside.....	C. BÉGUIN	<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb et Zucc	1925
3. Ulexoside.....	M. BRIDEL et C. BÉGUIN	<i>Ulex europæus</i> L. . . .	1926

la rhamnodiastase.

ceptibles d'être hydrolysés par la rhamnodiastase. Notons que certains hydrolyse se manifeste, en général, plus lentement (M. BRIDEL [117]).

tase, mais étudiés ou retrouvés depuis par cette méthode.

Formule	Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ (solution aqueuse)	Indice de réduction	Références
$C^{27}H^{30}O^{15}$			[86]
$C^{27}H^{30}O^{16}$	— 36°, 22		[386]
$C^{33}H^{40}O^{19}$			[393]
$C^{28}H^{36}O^{17}$	+ 3°, 75		[297]
$C^{19}H^{25}NO^{10}$	— 20°, 7		[14]
$C^{20}H^{28}O^{13}$	— 71°, 53		[235-230-234]
$C^{20}H^{28}O^{13}$	— 66°, 5		[235-230-234]
$C^{47}H^{60}O^{29}$	— 64°, 42		[99-113]
$C^{19}H^{26}O^{12}$	— 58°, 74	350	[108]
$C^{21}H^{34}O^{11}$	— 53°, 80		[274]

ce à la méthode à la rhamnodiastase.

$C^{26}H^{30}O^{15}$	— 87°, 41		[135-136]
$C^{20}H^{22}O^8$	— 63, 35		[4]
			[124]

Ces hétérosides étant jusqu'à présent peu nombreux, nous les grouperons d'après les sucres qu'ils fournissent par hydrolyse fermentaire. Les hétérosides précédents, à quelques exceptions près, (vicianoside et géoside qui font d'ailleurs partie des nouveaux groupes ci-dessous) dérivait tous du glucose β .

Voici, succinctement résumée, cette classification élémentaire :

A.) Hétérobiosides.

- | | | |
|---------------------|---|---|
| | | Donnant par hydrolyse fermentaire
autre la partie non glucidique : |
| I. Primevérosides | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Primevéroside} \\ \text{Primulavéroside...} \\ \text{Gentiacauloside ...} \\ \text{Monotropitoside...} \\ \text{Rhamnicoside.....} \end{array} \right\}$ | du primevérose,
c.à.d. 1 xylose + 1 glucose. |
| II. Rutinosides... | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Rutoside.....} \\ \text{Datiscoside.....} \end{array} \right\}$ | du rutinose,
c.à.d. 1 rhamnose + 1 glucose. |
| III. Vicianosides.. | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Vicianoside.....} \\ \text{Géoside.....} \end{array} \right\}$ | du vicianose,
c.à.d. 1 arabinose + 1 glucose. |

B). Hétérotriosides.

- | | | |
|-------------------|---|--|
| IV. Rhamnoside .. | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Xanthorhamnoside} \end{array} \right\}$ | du rhamninoze,
c.à.d. 2 rhamnose + 1 galactose. |
| V. Robinoside.... | $\left\{ \begin{array}{l} \text{Robinoside} \end{array} \right\}$ | du robinose,
c.à.d. 2 rhamnose + 1 galactose. |

C.) Hétérosides.

dont l'étude n'est pas achevée, mais qui sont hydrolysables par la rhamnodiastase.

Ce sont le polydatoside et l'ulexoside qui ne peuvent être classés actuellement, leur partie glucidique n'étant pas encore déterminée.

Cette méthode biochimique à la rhamnodiastase, a permis de signaler la présence d'hétérosides dans une dizaine de plantes appartenant à sept familles différentes. Comme l'a fait remarquer M. BRIDEL, on peut supposer que, dans la nature, ces corps sont aussi abondants que les hétérosides tributaires de l'émulsine. C'est ainsi que le monotropitose, soupçonné par BOURQUELOT dès 1896 [33], et isolé en 1923 par BRIDEL [108, 114, 153], a déjà été retrouvé dans l'écorce de *Betula lenta* (BRIDEL [109]), dans le *Gaultheria procumbens* (BRIDEL et Mlle GRILLON [150, 151, 333]) et enfin dans diverses espèces de Spirées (BRIDEL [111]).

Le robinoside, hétérotrioside, vient d'être retiré des fleurs de *Vinca minor* L. var. *alba* (RABATÉ [334]).

3° Hétérosides hydrolysables par la myrosine.

Méthode de VINTILESCO.

En 1910, J. VINTILESCO [378], élève de BOURQUELOT, a proposé une méthode biochimique à la myrosine.

Nous allons exposer rapidement ce procédé dont nous ne nous sommes pas servi et que nous avons, par suite, passé jusqu'ici sous silence.

L'auteur, s'inspirant de la méthode biochimique de son Maître, a remplacé l'émulsine par la myrosine, ferment spécifique de tous les hétérosides sulfurés des Crucifères, Capparidées, Tropéolées etc... (A. GUIGNARD [246]).

Préparation du ferment : La technique fut donnée par BUSSY en 1840, mais GUIGNARD, en 1894, indiqua deux nouveaux procédés [247] dont l'un évite l'emploi de la chaleur. C'est ce second mode opératoire que suivit VINTILESCO en 1910 [378] et que nous rapportons ici :

500 g. de moutarde blanche en poudre sont mis à macérer dans 1.500 cm³ d'eau distillée pendant cinq heures à + 40°. On exprime à travers une étamine épaisse.

Le liquide obtenu, environ 1000 cm³, est additionné, par petites portions, de son volume d'alcool à 80°. On élimine ainsi beaucoup de matières mucilagineuses. Le liquide est traité par deux volumes et demi d'alcool à 90° et filtré au bout de quelques instants, à travers un filtre sans plis. On lave le précipité à l'alcool, puis à l'éther, on le dessèche dans le vide et on le réduit en poudre.

Propriétés du ferment : Il contient, comme l'émulsine, de petites quantités d'invertine, c'est-à-dire de sucrase, mais il est sans action sur les hétérosides hydrolysables par l'émulsine. L'ase la plus importante de ce complexe est la sinigrosidase. Le produit, assez soluble dans l'eau, donne des solutions légèrement lévogyres ; l'addition de sous-acétate de plomb élimine cet inconvénient dans la méthode biochimique.

L'activité du ferment va jusqu'à 80°. Son action principale consiste dans l'hydrolyse de certains hétérosides sulfurés, notamment du sinigroside.

Les propriétés de la poudre fermentaire se conservent longtemps. GUIGNARD a constaté qu'une myrosine de quatre ans avait gardé toute son activité.

Application de la méthode. — Elle est identique à la méthode à l'émulsine, toutefois, si l'on fait agir le ferment sur un hétéroside pur, en solution aqueuse, tel que le sinigroside, par exemple, on observe une action très lente, due à la formation de sulfate acide de potassium qui empêche l'action hydrolysante du ferment.



On doit par suite, neutraliser le sel acide et VINTILES-co ajoute 1 gr. de bicarbonate de potassium qui n'entrave pas l'hydrolyse et qui fournit du sulfate de potassium neutre.

Par contre, l'hydrolyse, dans l'essai biochimique des solutions extractives, se fait beaucoup mieux ; ceci s'explique par la présence de sels qui neutralisent le bisulfate de potassium.

Il ressort des expériences de l'auteur qu'on peut appliquer cette méthode biochimique, à la recherche des hétérosides hydrolysables par la myrosine. Des essais concluants ont été faits sur les graines de moutarde noire, la racine de raifort et le radis noir.

La myrosine pourrait par conséquent fournir des indications de même ordre que l'émulsine.

L'étude biochimique indiquée par VINTILESCO a porté uniquement sur le sinigroside.

Hétérosides sulfurés hydrolysables par la myrosine.

Nom des Hétérosides	Auteurs	Plante	Année	Formule	Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$	Référence
Sinigroside (ine) .	BUSSY	<i>Sinapis nigra</i> L. (graines)	1840	$C^{10}H^{16}NS^2KO^9H^{20}$	— 17°,42	[158]
Sinalboside (ine) .	WILL et LAUBENHEIMER	<i>Sinapis alba</i> L. (graines)	1879	$C^{30}H^{42}N^2S^2O^{15}5H^{20}$	— 8°,23	[388]
Cheiroloside	W. SCHNEIDER et W. LOHMANN	<i>Cheiranthus Cheiri</i> L. (graines)	1913	$C^{11}H^{20}NS^3KO^{11}$	— 21°,09	[347]

Les autres hétérosides sulfurés, tels que le cochléarosite, le tropéoloside, le nasturtoside, ne sont pas encore suffisamment étudiés pour que nous puissions les mentionner dans ce tableau.

DEUXIÈME PARTIE

Application des procédés biochimiques
à la recherche et au dosage des glucides dans
quelques espèces du genre *Lathyrus*.

DEUXIÈME PARTIE.

Application des procédés biochimiques à la recherche et au dosage des glucides dans quelques espèces du genre *Lathyrus*.

La deuxième partie de notre travail est divisée en cinq chapitres :

Dans le premier chapitre, nous avons étudié la gesse tubéreuse et les variations que subissent certains de ses principes glucidiques au cours de la végétation annuelle.

Dans le deuxième chapitre, notre analyse a porté d'une façon analogue sur la gesse sauvage.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude succincte des autres gesses.

Nous nous sommes arrêté, dans le quatrième chapitre, à l'étude très intéressante de la gesse noire et aux variations de l'hétéroside que nous y avons découvert : l'*arbutoside*. Nous avons recherché, d'autre part, l'origine de la mélanogénèse chez cette plante.

Enfin, le cinquième chapitre a été réservé à l'étude de l'*arbutoside* et aux hypothèses émises sur la formation et les modifications physiologiques de cet hétéroside chez les végétaux.

Généralités sur le genre *Lathyrus* (Papilionacées).

Les *Lathyrus* (du nom grec *Λάθυρος* (*Lathyros*), donné à une sorte de pois), plus connus sous le nom de gesses, possèdent des fleurs pourvues d'un calice à cinq dents *inégaies*. La réunion des étamines forme un tube *coupé en travers au sommet*. Ce tube est formé le plus souvent par les filets de neuf étamines, la dixième étant quelquefois libre. Le style droit, arqué ou tordu sur lui-même, est *aplati d'avant en arrière* et *porte des poils sur sa face supérieure*. Le fruit est ordinairement aplati sur les côtés, plus long que large, et s'ouvre par deux valves. Les feuilles ont en général, une vrille rameuse ou simple ; parfois elles sont seulement terminées par un petit filet qui peut être très court ; plus rarement la feuille est réduite à une vrille ou à un pétiole aplati en forme de limbe. Les fleurs sont de couleurs très variées (1).

La morphologie des graines offre une grande diversité, surtout si l'on range dans le genre *Lathyrus*, comme nous l'avons fait, les espèces quelquefois groupées sous le nom d'*Orobus*. Cette classification nous semble d'ailleurs plus rationnelle, si l'on s'en rapporte aux observations de LAMARCK [289], à l'atlas de G. BONNIER [26] et à la flore de Lorraine de A. GODRON [228]. Cet auteur n'en fait qu'un seul genre, ayant constaté chez certaines gesses la transformation des vrilles en folioles.

On en a, jusqu'à présent, décrit 110 espèces environ, habitant les contrées les plus variées.

(1) La plupart de ces caractères sont empruntés à la flore complète de G. BONNIER [26].



FIGURE 1. — *Lathyrus tuberosus* L.

CHAPITRE PREMIER.

Gesse tubéreuse (*Lathyrus tuberosus* L.)

Description générale de la plante.

La gesse tubéreuse est une jolie plante, un peu glauque, à tiges de 40 cm. à 1 m.,²⁰, qu'on trouve dans toute l'étendue de la France. Les fleurs *odorantes, d'un rose vif*, se montrent depuis le mois de juin jusqu'au mois d'août dans les champs, sur les berges, les talus de voie ferrée et surtout dans les terrains d'alluvions. Cette espèce se reconnaît à ses tiges et à ses pétioles qui *ne sont pas ailés dans leur longueur*, à leurs feuilles portant *deux folioles*, mais surtout aux parties souterraines *munies de tubercules* formés par des renflements ovoïdes. Les feuilles sont toutes terminées en vrilles. Les fleurs sont groupées par trois à cinq sur des rameaux florifères, *bien plus longs* que la feuille, à l'aisselle de laquelle ils se trouvent. Elles mesurent de 14 à 15 mm. de longueur et donnent des fruits bosselés, sans poils et de couleur fauve lorsqu'ils sont complètement mûrs. Ils mesurent de 25 à 35 mm. de longueur sur 4 à 5 mm. de largeur et ne renferment que peu de graines d'un brun rougeâtre.

C'est une plante *vivace*, se perpétuant surtout par des renflements souterrains de la racine, dont nous avons pu constater les tendances envahissantes dans le Nord-Est de la France (1).

(1) Voir note (1) p. 100.

§ I. — RECHERCHES CHIMIQUE ET BIOCHIMIQUE.

I. — Historique.

Les seuls renseignements que nous possédions sur les feuilles du genre *Lathyrus* nous ont été fournis par DES-SAIGNES [202] qui signale la présence d'asparagine dans les tiges étiolées des *Lathyrus odoratus* et *latifolius*.

Notre documentation est plus complète en ce qui concerne les renflements souterrains de la racine, appelés communément glands de terre, chataignes de terre, macjons, macussons, connus de tout temps dans les campagnes.

D'un goût assez délicat, ils sont mangés crus ou cuits à l'eau ou sous la cendre. Selon BONNIER, les montagnards d'Ecosse en sont friands ; avec de l'eau et du levain ils fabriquent, au moyen de ces tubercules, une boisson fortifiante et rafraîchissante. D'après MILLER, ils seraient cultivés en Hollande pour l'usage de la table.

En Lorraine, on les vendait jadis au marché de Nancy et actuellement encore, dans la région de la Seille, les enfants suivent la charrue pour recueillir les macussons confondus par certains avec les truffes.

Les premiers documents chimiques, dont nous ayons connaissance, concernant cette gesse, remontent aux recherches de PARMENTIER [317], c'est-à-dire au début du XIX^e siècle.

L'auteur, dans une série d'études sur les végétaux nourissants qui, dans les temps de disette peuvent remplacer les aliments ordinaires, fait mention d'une analyse des tubercules, que nous n'avons pu nous procurer. Ils contiennent, dit-il, de l'amidon, du sucre, une matière fibreuse et une substance glutineuse. Pour ces raisons, il en propose l'emploi alimentaire en les mêlant à la pomme de terre et décrit en ces termes ces essais :

« Je ne connais rien pour le goût de plus comparable à

la châtaigne avec cette différence que la première en sa qualité de semence est plus sèche et moins fibreuse. Monsieur TOUVENEL, de la Société de Médecine, s'est occupé particulièrement de l'examen chimique des macussons comme production commune de la patrie, il en a fait du pain que j'ai trouvé fort bon, son travail n'a pas encore été publié ».

Vers la même époque, ROZIER [344] préconisait aussi la culture de cette gesse dans un but alimentaire.

Une analyse beaucoup plus scientifique fut entreprise par BRACONNOT [87], en 1818, sur la composition chimique des macussons. Voici, résumés brièvement, les résultats qu'il obtint en opérant sur 500 grammes de tubercules frais :

	g.
Eau.....	327,98
Amidon.....	84
Sucre cristallisé (analogue au sucre de canne).....	30
Fibre ligneuse.....	25,20
Matière animalisée.....	15
Albumine.....	14
Oxalate de chaux.....	1,80
Huile rance.. } Adipocire.... }	0,90
Phosphate de chaux.....	0,50
Sulfate de potassium.....	0,22
Malate de potassium.....	0,26
Phosphate de potassium.....	0,40
Muriate de potassium.....	0,10
Principe odorant.	
Total.....	500 g.

Notons, en ce qui nous concerne, dans cette analyse fort intéressante pour l'époque, la présence de l'amidon et du saccharose. Ce dernier glucide, d'après l'auteur, ne peut-être extrait totalement, se trouvant en partie dans un état de combinaison avec une matière minéralisée qui l'empêche de cristalliser. BRACONNOT évalue à 6

p. 100 la proportion de ce sucre sans avoir pu toutefois isoler cette quantité.

V. HARLAY [254], en 1903, étudiant au point de vue biochimique les substances de réserve dans les tubercules, a utilisé le procédé de BOURQUELOT pour doser, au mois de mai, le saccharose des parties souterraines de la gesse tubéreuse ; il y a joint les dosages d'amidon et d'humidité.

Enfin, en 1929, en collaboration avec P. GILLOT [226], nous avons établi la composition centésimale suivante de ces tubercules récoltés au mois de mars :

	g.
Eau.....	74,20
Matières minérales.....	1,30
Matières protéiques.....	7,12
Matières amylacées.....	3,62
Sucre réducteur.....	0,34
Saccharose.....	6,09
Non dosé.....	7,33
Total.....	100 g.

En dehors de ces produits, nos recherches ont décelé la présence de pectine et d'une base azotée. Une autre analyse en septembre nous a signalé l'existence d'un principe dextrogyre différent du saccharose.

II. — Etude des racines.

1° Recherches préliminaires. Essai biochimique.

Le premier essai biochimique concernant le *Lathyrus tuberosus* L. a été effectué au mois d'avril, sur des racines garnies de leurs tubercules, récoltées aux environs de Châlons-sur-Marne. Les organes souterrains ont été stabilisés, puis épuisés par l'alcool bouillant suivant la technique habituelle.

Après évaporation de la solution extractive, dans le

vide et à basse température, le résidu fut dissous dans de l'eau toluénée de telle sorte que 100 cm³ de liquide correspondaient à 100 g. d'organes frais.

On a fait alors agir successivement l'invertine, l'émulsine et la rhamnodiastase.

Les résultats obtenus ont été condensés dans le tableau suivant :

Déviatiou (I = 2)	{	Initiale.....	+ 8°8'
		Après action de l'invertine...	— 0°59'
		Après action de l'émulsine...	— 1°10'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial	0 g.,395
		Après action de l'invertine...	6 g.,115
		Après action de l'émulsine ...	6 g.,160
Par l'invertine	{	Changement de rotation (recul)	9°7'
		Sucre réducteur formé	5 g.,720
		Indice de réduction.....	627
Par l'émulsine	{	Changement de rotation (recul)	11'
		Sucre réducteur formé	0 g.,045
		Indice de réduction.....	245
Par la rhamnodiastase : aucune action.			

Ces résultats sont faciles à interpréter :

Sous l'action de l'invertine, il s'est produit un changement de rotation vers la gauche de 9°7' avec une augmentation de 5 g.,720 de sucre réducteur : Soit un indice enzymolytique de 627.

L'indice du saccharose étant de 603, nous avons tenté et réussi son extraction.

On peut noter de suite que ce glucide est accompagné d'un autre principe dextrogyre. En effet, si la déviation initiale était due uniquement au saccharose, elle devrait passer beaucoup plus nettement à gauche après hydrolyse par la sucrase, or elle atteint seulement 59'. Il est impossible, même en évaluant les sucres réducteurs initiaux en glucose et en retranchant leur déviation théorique de la déviation totale, d'expliquer le maintien d'une

rotation aussi peu lévogyre, après action de l'invertine. Nous avons dû conclure à la présence dans la colature d'autres produits actifs sur la lumière polarisée et fortement dextrogyres.

L'émulsine, ajoutée à la solution extractive, n'a pas provoqué de retour vers la droite. Au contraire, le recul s'est poursuivi vers la gauche (11') avec formation de 0 g,045 de sucre réducteur.

L'indice de réduction enzymolytique est de 245.

Le ferment agit donc très faiblement sur un oside inconnu qui voisine avec le saccharose et sur lequel nous ne pouvons, dès maintenant, faire aucune hypothèse.

La rhamnodiastase s'est montrée sans influence sur les liquides extractifs.

En ce qui concerne les osides dextrogyres inconnus, insensibles ou peu sensibles aux actions fermentaires, (invertine, émulsine, rhamnodiastase), les analyses des tubercules récoltés à différentes périodes de la végétation nous ont permis de déceler la présence, dans les organes étudiés, d'une part d'un diholoside en relation probable avec l'amidon et d'autre part d'un tri ou d'un tétraholoside.

2° Extraction et identification de quelques glucides.

Notre première tentative d'extraction fut faite au mois de décembre avant de connaître les résultats de tous les essais. Comme l'indique le tableau général des variations, le principe dextrogyre réducteur étant à cette époque en proportion relativement faible, nous n'avons pu isoler dans cette expérience que le saccharose.

Extraction et identification de l'un des sucres hydrolysables par l'invertine Saccharose.

Afin de vérifier les indications biochimiques fournies par l'invertine, nous avons extrait, à l'état cristallisé, le saccharose des tubercules de la gesse tubéreuse,

Deux procédés nous ont servi pour cet isolement :

1° *La méthode d'extraction directe*, fort bien décrite par R. SIBASSIÉ [351].

« Elle consiste dans la préparation d'un extrait provenant de la distillation à fond d'une teinture faite à chaud et titrant 60°. Cet extrait, qui contient une forte proportion de sucres, est traité, à plusieurs reprises successives, avec de l'alcool bouillant à reflux. Au début, on emploie de l'alcool à 95°, puis à 90°, à 85° et enfin à 80°. Tout en faisant varier le titre, on diminue progressivement le volume de l'alcool employé, car l'extrait, à la suite de ces traitements, devient de moins en moins riche en sucres. On fait de 10 à 15 « reprises alcooliques ». Après refroidissement et repos de 24 heures, ces reprises sont filtrées. Assez rapidement on voit des cristaux se former au sein des liquides alcooliques ».

2° *La méthode d'extraction « à la baryte »* de Ch. TANNERET [361].

Ce procédé repose sur la propriété que possèdent la plupart des polyholosides de donner, avec l'hydroxyde de baryum ($\text{Ba}(\text{OH})_2$), une combinaison qui est soluble dans l'eau et qui est insoluble dans l'alcool fort.

Ce sel de baryum, décomposé par un courant lent de gaz carbonique ou mieux par de l'acide sulfurique dilué, puis neutralisé immédiatement par un peu de carbonate de calcium, libère les sucres qui entrent en solution dans l'eau. Après distillation à fond sous pression réduite, l'extrait obtenu est soumis à des reprises successives avec de l'alcool dont on fait varier le titre et la quantité.

Dans ces liqueurs, les sucres se déposent et les cristaux peuvent être recueillis.

Les deux méthodes nous ont donné d'excellents résultats.

De 4 kg. de tubercules récoltés en décembre, nous avons obtenu abondamment, par l'un ou par l'autre des procédés, un sucre cristallisé qui, lavé à l'alcool puis

séché dans l'exciccateur à acide sulfurique, présentait les caractères suivants :

$$\begin{array}{l} \text{Pouvoir rotatoire : } [\alpha]_{\text{D}} = + 67^{\circ} \\ (p = 0,920 \quad v = 50 \quad l = 2 \quad \rho = + 2^{\circ}28') \end{array}$$

La liqueur sucrée ayant servi à déterminer le pouvoir rotatoire spécifique fut additionnée d'invertine et mise pendant cinq jours à l'étuve à 35°. A ce moment, la solution était devenue très fortement réductrice et présentait, à 17°, une déviation polarimétrique égale à — 48'.

Ce retour est identique à celui que donnerait une solution de sucre de canne de même concentration.

Les résultats montrent que l'holoside hydrolysable, existant abondamment dans les tubercules, est bien le *saccharose*.

Identification et isolement des principes dextrogyres différents du saccharose.

En examinant les résultats fournis par les divers essais biochimiques, on voit qu'il existe un ou plusieurs composés dextrogyres accompagnant le saccharose dans les tubercules de la gesse tubéreuse. Le tableau général des variations glucidiques (1) indique clairement que c'est surtout pendant la période assimilatrice que s'emmagasinent ces produits.

Ces données nous ont permis de choisir la meilleure saison pour l'isolement des glucides. Nous avons pu, d'autre part, tirer préalablement les conclusions suivantes qui se rapprochent beaucoup de celles qui ont été faites par P. GILLOT [223], au cours de son étude sur les variations glucidiques des mercuriales.

1° Les déviations dextrogyres des différents essais, avant et après action de l'invertine, augmentent régulièrement d'avril à septembre. On peut seulement noter

(1) Voir p. 148 et 149.

une légère décroissance en août, qui tient à une période de sécheresse anormale suivie d'une reprise de la végétation.

2° Cette augmentation ne dépend que pour une faible part de la quantité de saccharose emmagasiné, puisque la proportion de ce sucre varie très peu pendant la période végétative considérée.

3° L'accroissement du pouvoir dextrogyre coïncide avec une accumulation de matières amylacées et avec une augmentation simultanée de la proportion des sucres réducteurs initiaux.

Identification et isolement du glucose.

La formation de glucosazone dans les liqueurs extractives, ainsi que l'oxydation très marquée des sucres réducteurs initiaux par les halogènes, nous avaient fait entrevoir la présence de cet ose.

Pour avoir confirmation de cette hypothèse, nous avons utilisé la méthode biochimique de caractérisation du glucose, qui repose sur l'action synthétisante de l'émulsine en présence d'alcool méthylique (E. BOURQUELOT et M. BRIDEL [52]).

Les belles recherches de BOURQUELOT et de BRIDEL ont montré, en effet, que le glucose, sous l'influence de la glucosidase β contenue dans l'émulsine des amandes, est capable, en présence d'alcool méthylique suffisamment dilué, de se transformer en un hétéroside, le méthylglucoside β .



Ce procédé nous a permis de mettre en évidence cet hexose parmi les sucres réducteurs initiaux de la gesse.

Nous avons utilisé, à cet effet, des solutions extractives déféquées par l'extrait de Saturne, privées de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré, et débarrassées de l'acide acétique par agitation avec de l'éther et concentration dans le vide à basse température,

Le liquide sirupeux obtenu fut d'abord épuisé à chaud par de l'éther acétique puis, à plusieurs reprises, par de l'alcool à 95°.

C'est de cette solution glucidique alcoolique que nous sommes parti pour préparer l'hétéroside synthétique.

Après élimination complète de l'alcool éthylique par distillation à résidu sec, l'extract fut repris par de l'alcool méthylique à 50° et soumis à l'action de l'émulsine suivant la technique de BOURQUELOT et de BRIDEL [57]. La réaction s'effectue très lentement, lorsqu'on agite simplement le mélange fermentaire à la main. Nous avons opéré une synthèse plus rapide en utilisant, à la température du laboratoire, une roue hydraulique qui a provoqué un contact intime et permanent de l'émulsine et de la solution alcool-glucidique.

La réaction a été suivie au polarimètre ; simultanément, nous savions, grâce au dosage des sucres réducteurs, la quantité de glucide disparu par transformation en méthylglucoside β . En soumettant le milieu à une agitation très lente mais continue, la durée de l'expérience qui normalement demande plusieurs mois, s'est trouvée diminuée dans des proportions considérables. L'équilibre synthétique fut atteint en huit jours seulement conformément d'ailleurs aux indications données par M. BRIDEL et N. JOANID [152].

Pour contrôler ces résultats, nous avons effectué, d'autre part, la même opération avec un échantillon de glucose pur dans des conditions expérimentales analogues. Nous voulions connaître la proportion d'hexose combiné dans un milieu identique ; on sait, en effet, que la réaction est limitée, comme toute réaction d'éthérification, qu'il y a une constante d'équilibre et que, dans les conditions de nos expériences, la combinaison porte sur les 69 centièmes du glucose (E. BOURQUELOT et E. VERDON [84]).

Dans notre essai témoin, il y eut 70 p. 100 de glucose combiné.

Extraction et caractérisation du méthylglucoside β .

Afin d'être certain que la synthèse effectuée concernait le glucose, nous avons tenu à isoler l'hétéroside et à le caractériser.

Dans ce but, le liquide fermentaire a été filtré pour séparer l'émulsine, puis distillé à sec sous pression réduite. Le résidu a été repris par 50 cm³ d'eau froide. De cette solution, nous avons éliminé le glucose non combiné par fermentation avec un peu de levure haute.

L'effervescence disparue, la solution a été filtrée de nouveau, amenée à siccité à faible température dans le vide, puis traitée à l'ébullition par un mélange d'alcool à 95° (10 cm³) et d'éther acétique (25 cm³). Après refroidissement et repos de vingt-quatre heures, on a recueilli des cristaux en table carrée qui, convenablement lavés et séchés à l'air, présentaient tous les caractères du méthylglucoside β .

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D = -32^{\circ},5$

($p = 0,20$ $v = 10$ $l = 2$ $\rho = -1^{\circ}18'$)

Le produit n'est pas réducteur et fond au bloc de MAQUENNE à 100°.

Obtention du glucose.

Nous sommes parti de ce méthylglucoside β pour isoler le glucose.

On a chauffé à l'autoclave à 110°, pendant trois heures, un mélange de 50 cm³ de solution de l'hétéroside et de 50 cm³ d'acide sulfurique à 5 p. 100. La liqueur, après l'opération, est restée parfaitement claire ; elle a été neutralisée par du carbonate de calcium, puis distillée jusque résidu sec.

1° Les premières portions du distillat, oxydées par le permanganate de potassium en solution étendue et en milieu sulfurique, ont été redistillées. Les premières gouttes renfermaient l'aldéhyde formique formé par oxy-

dation de l'alcool méthylique. Il nous a été facile de le caractériser, notamment par la coloration violette qu'il donne au contact d'une goutte d'acide sulfurique contenant des cristaux de chlorhydrate de morphine.

2° Le résidu sec a été repris au bain-marie bouillant par de l'alcool absolu en présence de noir animal. La liqueur filtrée après refroidissement a donné, quelques jours après, sur amorce de glucose, une très belle cristallisation. Ces cristaux ont été lavés et séchés à l'air. Ils se présentent sous forme de petits prismes microscopiques. En solution aqueuse, le sucre est doué de la mutarotation descendante. Son pouvoir rotatoire spécifique stable est :

$$[\alpha]_D = + 52^{\circ},02$$

Le pouvoir réducteur est le même que celui du glucose.

Les organes de réserve de la gesse tubéreuse renferment donc du *glucose* à l'état libre. Toutefois, comme nous l'ont montré nos calculs, ce sucre ne constitue pas la totalité des glucides réducteurs initiaux.

Identification d'un polyholoside.

Si nous calculons, d'après le tableau des variations, la rotation dextrogyre que devraient donner les sucres réducteurs initiaux en les exprimant en glucose, nous voyons que cette déviation ne permet pas d'expliquer la forte rotation droite, indépendante du saccharose, que l'on observe d'avril à septembre.

Il était logique de soupçonner la présence de glucide à saccharose combiné.

Nous avons en effet, remarqué une action fort peu sensible de l'émulsine sur nos solutions extractives. Sous l'influence de ce ferment, on constate un faible retour polarimétrique, accompagné d'une légère augmentation des oses réducteurs. Les indices obtenus sont assez constants et varient entre 200 et 350.

Dans l'étude des méthodes biochimiques, nous avons vu que certains polyholosides sont susceptibles de donner de tels phénomènes. Le mélibiose et le manninotriose fournissent respectivement, des constantes de réduction enzymolytique de 254 et de 389.

Par suite des proportions minimales de ce glucide dextrogyre, nos tentatives d'extraction directe ou barytique n'ont jamais eu de succès sauf pour l'obtention du saccharose.

En fait, le sucre n'a pas été isolé à l'état cristallisé, mais nous avons réussi à suivre ses variations approximatives en utilisant l'émulsine. Les calculs ont montré que la présence de faibles quantités de ce glucide, qui doit être très voisin du raffinose ou du stachyose, ne permettait pas d'expliquer l'origine des déviations dextrogyres de nos solutions extractives.

Isolement et identification du maltose.

Recherches par voies chimique et biochimique. — Devant ces résultats négatifs, nous nous trouvions certainement en présence d'un glucide non hydrolysable par les différents ferments employés. Nous étions convaincu d'autre part, qu'il s'agissait d'un principe réducteur. On peut constater en effet, dans le tableau des variations, que ses différents maxima et minima coïncident toujours avec ceux des oses réducteurs initiaux (1).

La similitude présentée par les oscillations annuelles de ce glucide avec celles qui furent observées par P. GILLOT [223] dans les mercuriales, nous ont fait songer à un produit intermédiaire entre les oses et l'amidon.

Comme il s'agissait d'un glucide réducteur, nous avons essayé d'identifier les matières réductrices initiales par la méthode des osazones. Nous avons utilisé pour cette recherche les liquides sucrés, déféqués et privés de plomb, en les soumettant à l'action du chlorhydrate de phénylhydrazine en présence d'acétate de sodium.

(1) Voir p. 148 et 149.

En suivant la technique de L. GRIMBERT [240], nous avons mis facilement en évidence l'existence de deux osazones. L'une, insoluble dans l'eau chaude, dans l'acétone étendu de son volume d'eau et dans l'alcool méthylique, présentait au microscope l'aspect de la glucosazone. L'autre, soluble dans l'eau chaude, dans l'acétone étendu de son volume d'eau et dans l'alcool méthylique, offrait l'aspect de lamelles le plus souvent groupées en rosaces. Après purification, ces deux osazones fondaient au bloc MAQUENNE, la première à 230°-231°, la seconde à 200°-201°.

Pour contrôler ces importants résultats, nous avons repris les essais en partant de liqueurs extractives simplement décolorées au noir animal. Les osazones obtenues furent identiques.

L'hydrolyse totale des solutions primitives, au moyen d'acide sulfurique dilué, a permis la préparation ultérieure de glucosazone accompagnée de traces de galactosazone.

Enfin, nous avons remarqué que les extraits fluides provenant des organes de réserve de la gesse tubéreuse réduisaient fortement la liqueur cupro-alkaline et se montraient, par contre, peu actifs sur le réactif à l'acétate de cuivre (BARFÆD [3]).

Tous ces faits semblant indiquer que les glucides réducteurs initiaux étaient constitués par du glucose, et peut-être aussi par du maltose, nous avons songé à utiliser la méthode préconisée par Mlle BOURDOUIL [31] pour déceler et doser le maltose dans les plantes en employant l'action de la poudre de pancréas.

L'essai biochimique entrepris sur les tubercules (1) a été poursuivi selon la technique décrite dans la première partie de ce travail (2).

Voici les résultats que nous avons obtenus en faisant agir le ferment à raison de 0 g.,5 p. 100 cm³ dans notre solution extractive après action de l'émulsine.

(1) Voir p. 106.

(2) Voir p. 62.

Déviatiôn	{	Après action de l'émulsine	— 1°16'
(l = 2)	{	Après action de la poudre de pancréas.	— 1°33'
Sucre réducteur	{	Après action de l'émulsine	6 g., 160
(p. 100 cm ³)	{	Après action de la poudre de pancréas	6 g., 263
Par la poudre	{	Changement de rotation (recul)	23'
de pancréas	{	Sucre réducteur formé	0 g., 103
	{	Indice de réduction	271

La poudre de pancréas renferme donc des diastases capables d'hydrolyser le ou les produits dextrogyres, de nos solutions d'essais, non touchés par l'invertine et par l'émulsine. L'indice de réduction obtenu est de 271, très voisin par conséquent de l'indice théorique du maltose (275).

Isolement du maltose.

Pour identifier définitivement le maltose, nous avons tenté l'extraction de cet oside, à l'état pur et cristallisé, en le faisant passer, à 0°, sous forme de combinaison barytique, après élimination des autres glucides.

A cet effet, la liqueur extractive primitive, purifiée par l'extrait de Saturne et débarrassée de son excès de plomb, fut soumise tout d'abord à l'action de l'invertine pour hydrolyser le saccharose, puis divisée en deux lots sur lesquels nous avons fait agir, à la température de 30°, d'une part *Saccharomyces Marxianus*, d'autre part *Torula monosa*, levures susceptibles de transformer les hexoses et de respecter le maltose. (FISCHER et LINDER [216].

Grâce au dédoublement préalable du saccharose, la fermentation ne dura que quatre jours.

Les oses étant éliminés, le liquide fermentaire fut de nouveau déféqué à l'extrait de Saturne, puis privé de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré. On enleva ce dernier par évaporation sous pression réduite. Une agitation fréquemment renouvelée avec de l'éther, permit d'entraîner la plus grande partie de l'acide acétique.

La liqueur, que nous avons obtenue après concentration dans le vide et à basse température, possédait une déviation polarimétrique dextrogyre. Elle réduisait nettement la liqueur cupro-alkaline, mais elle était par contre presque inactive sur le réactif de BARFORD.

En partant de ce liquide fermentaire, nous avons effectué au voisinage de 0°, une combinaison barytique du sucre avec une quantité calculée approximativement d'hydroxyde de baryum. La combinaison, d'abord précipitée par l'alcool à 95°, fut décomposée par l'acide sulfurique dilué. Finalement, nous avons obtenu dans nos expériences un liquide fortement teinté en rouge qui, après décoloration par le noir animal, fut amené, sous pression réduite, à consistance sirupeuse.

C'est cet extrait qui fut épuisé, à l'ébullition, successivement par de l'alcool de différents titres. Il est malheureusement passé chaque fois, dans nos épuisements alcooliques, une substance résineuse qui a considérablement gêné les cristallisations. Celles-ci ont été obtenues après plusieurs jours de repos, principalement dans l'alcool à 85° ; nous n'avons pu retirer que 0 g.,80 environ de cristaux.

Etude des cristaux. — Les cristaux recueillis, lavés à l'alcool et séchés à l'air, possédaient les propriétés suivantes :

Propriétés physiques. — Le corps se présente en aiguilles de faible saveur sucrée. Desséché dans le vide sulfurique, puis rapidement à l'étuve à 105°, il perd 4,86 p. 100 d'eau de cristallisation (Perte théorique pour $C^{12}H^{22}O^{11}H^2O$. : 5 p. 100). Il est doué de mutarotation ascendante et possède un pouvoir rotatoire stable de :

$$[\alpha]_D = + 130^{\circ}$$

$$(p = 0,132 \quad v = 10 \quad l = 2 \quad \rho = + 3^{\circ}26')$$

Propriétés chimiques. — Le sucre a un pouvoir réducteur sensiblement égal à celui du maltose pur. Par la

méthode déjà citée (1) de G. BERTRAND, 0 g.,055 ont donné une quantité d'oxydure de cuivre correspondant à 0 g.,0581 de cuivre, soit, d'après les tables, 0 g.,02947 de glucose. Un g. de ce glucide réduit comme 0 g.,536 de glucose.

En utilisant la méthode de BOUGAULT [27], à l'iode et au carbonate de sodium, on a trouvé :

Sucre à oxyder = 0,0843 Iode absorbé = 0,05972

$$PM = \frac{0,0843 \times 254}{0,05972} = 358$$

Le maltose hydraté a un poids moléculaire de 360.

Enfin, par action de l'anhydride acétique en présence d'acétate de sodium anhydre, nous avons formé avec notre produit cristallisé et avec un échantillon témoin de maltose pur, un dérivé qui, après plusieurs cristallisations dans l'alcool, présentait les caractères de l'octoacétylmaltose et fondait à $+ 156^{\circ}$.

Caractérisation du maltose par son osazone. — En raison de la faible quantité de produit cristallisé, nous avons préparé la maltozazone en partant, soit du sirop qui nous avait déjà donné des cristallisations, soit directement des organes de réserve. Nous avons ainsi obtenu une quantité assez grande d'osazone dont nous avons comparé les caractères à ceux d'une maltosazone type.

Les déterminations ont été effectuées sur des produits purifiés par de nombreuses cristallisations dans l'eau distillée.

Propriétés des osazones obtenues. — Au bloc de MAQUENNE, par la méthode de fusion instantanée de BERTRAND, l'osazone isolée fond à 198° - 200° et son mélange avec l'osazone du maltose pur fond à la même température.

La maltosazone possédant un pouvoir rotatoire dextrogyre, nous avons examiné de préférence sa solution

(1) Voir p. 62.

méthylrique qui donne une déviation plus élevée que sa solution acétonique.

Voici les valeurs obtenues, en examinant parallèlement en solution méthylrique l'osazone en rosace provenant de la plante et la maltosazone pure :

Maltosazone pure : $[\alpha]_{\text{D}} = + 62^\circ$					
(p = 0,15	v = 20	l = 2	$\rho = + 0^\circ 46'$	t = 15°)	
Osazone étudiée : $[\alpha]_{\text{D}} = + 62^\circ$					
(p = 0,075	v = 10	l = 0,5	$\rho = + 0^\circ 14'$	t = 15°)	

Nous avons d'autre part tenté de comparer les dispersions rotatoires moléculaires des deux osazones en solution méthylrique. Pour la raie verte, l'examen de la maltosazone pure était possible ; il n'en fut pas de même pour la seconde osazone par suite d'une coloration trop accentuée. Nous avons donc dû nous contenter d'un examen en lumière jaune.

Ces déterminations permettent d'identifier l'osazone étudiée avec la maltosazone et confirment la présence du *maltose*, comme principe réducteur dextrogyre, dans les organes de réserve de la gesse tubéreuse.

*Remarque concernant l'action de l'émulsine
sur le maltose.*

Dans quelques essais biochimiques, nous avons constaté une action excessivement lente de certaines émulsines sur le principe dextrogyre identifié ultérieurement avec le maltose. Le fait paraissait anormal. On sait que l'invertine préparée avec de la levure peu fraîche contient souvent de la maltase, mais, jamais à notre connaissance, on n'avait signalé ce dernier ferment dans l'émulsine.

Pour contrôler ces expériences, nous avons essayé les produits fermentaires sur des solutions de maltose pur.

Les résultats contradictoires obtenus nous ont étonné ; certaines émulsines ont provoqué, en effet, plus ou moins rapidement l'hydrolyse de l'holoside.

Nous donnons ci-joint le tableau concernant l'action fermentaire la plus rapide. On employait 1 g. d'invertine et 0 g.,50 d'émulsine dans 100 cm³ d'une solution toluénée contenant 0 g.,50 de maltose.

	Initiale	Après invertine (8 jours)	Après émulsine (8 jours)
Déviatiou (1 = 2)	+ 1°18'	+ 1°18'	+ 1°2'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)			
exprimé en maltose	0 g.,509	0 g.,509	
exprimé en glucose	0 g.,264	0 g.,264	0 g.,340

Indice de réduction enzymolytique après action de l'émulsine : 285.

Indice théorique du maltose : 275.

Nous avons, en outre, préparé les osazones de ces trois essais. Le liquide initial, avant et après action de l'invertine, ne nous a procuré qu'une osazone offrant tous les caractères de la maltosazone. Par contre, la solution soumise à l'émulsine a donné avec la phénylhydrazine deux osazones : d'une part la maltosazone pure, d'autre part une osazone, insoluble dans l'eau bouillante, présentant une forme typique en branche de genêt et qui fut identifiée à la glucosazone.

L'essai, renouvelé à différentes reprises, a fourni des résultats identiques. Nous avons pu nous expliquer ainsi l'action de cet échantillon d'émulsine sur nos solutions extractives renfermant du maltose.

A cette occasion, nous nous permettrons de signaler que P. GILLOT, dans des travaux non publiés, avait déjà observé, sur des extraits de mercuriales, une faible hydrolyse fermentaire provoquée certainement par des traces de maltase dans l'émulsine. Ces documents, que l'auteur a eu l'amabilité de nous communiquer, sont venus confirmer nos résultats.

Il est certain que toutes les émulsines ne contiennent pas de maltase. Il suffit pour s'en convaincre de se repor-

ter aux nombreuses publications ayant trait à l'étude de l'émulsine et qui ont cependant passé ce fait important sous silence.

D'autre part, en suivant les variations glucidiques annuelles du *Lathyrus tuberosus* L., nous avons pu remarquer qu'il n'existait que de rares échantillons d'émulsine susceptibles d'hydrolyser le maltose en solution aqueuse.

Au point de vue pratique, on peut déduire de ces observations qu'il est nécessaire, dans l'étude biochimique des plantes renfermant du maltose, de vérifier préalablement l'absence de maltase, non seulement dans l'invertine mais aussi dans l'émulsine.

Ce contrôle peut d'ailleurs s'effectuer facilement lors de la vérification habituelle de l'activité optique des diastases.

3° Calcul des proportions relatives des différents glucides dans nos solutions extractives.

(Mélange d'hexoses, de maltose, de saccharose et d'un polyholoside).

Ces dosages présentaient une difficulté, par suite de la présence du maltose, sucre réducteur hydrolysable.

Tout récemment encore, on calculait les proportions d'hexoses et de maltose dans un mélange, en employant la technique préconisée par LE GRAND [294]. Elle consistait à titrer la totalité des sucres réducteurs par la liqueur cupro-alcaline, puis à utiliser la liqueur de BARFÆD pour déterminer les hexoses. Par différence, on obtenait la quantité de maltose.

Au début de nos expériences, nous nous sommes servi de cette méthode pour différencier les sucres. Nous avons pu remarquer, comme NOTTIN [316], que le maltose possède par lui-même une certaine action sur la liqueur de BARFÆD et qu'il faut établir, pour les dosages, des facteurs de correction,

D'autre part, la liqueur de BARFÆD, à l'ébullition, en présence de sels alcalins ou alcalino-terreux aux concentrations supérieures à 1 p. 1.000, précipite de l'acétate basique de cuivre, ce qui la rend plus réductible par le sucre [294].

Cette technique présente encore le sérieux inconvénient de comparer deux dosages obtenus par des manipulations différentes.

Afin d'éviter ces difficultés, nous avons songé, après le dosage des sucres réducteurs initiaux et l'essai à l'invertine, à dédoubler le maltose par les acides forts dilués. Les solutions étaient hydrolysées en chauffant, pendant six à huit minutes, 25 cm³ de liquide neutre avec 0 cm³,5 d'acide chlorhydrique officinal. Le volume primitif était ensuite rétabli après refroidissement. Malheureusement, la forte concentration de l'acide employé, cependant nécessaire pour le dédoublement, provoquait une altération des oses et la coloration des solutions.

Pour toutes ces raisons, nous avons dû recourir à une méthode plus simple.

Un procédé biochimique de dosage du maltose en milieu complexe, assez exact mais long, consiste à ensemencer les liqueurs étudiées avec une levure susceptible de respecter le diholoside, tout en consommant les autres sucres. La différence entre le pouvoir réducteur d'un témoin stérilisé et celui de la solution fermentée permet de calculer directement la proportion de glucide.

Nous avons surtout employé cette méthode pour la séparation qualitative du maltose en opérant avec les levures suivantes : *Saccharomyces Marxianus* et *Torula monosa*.

Il faut avoir bien soin de vérifier préalablement l'action de la première de ces levures sur une solution nutritive de glucose et de maltose.

R. FRANQUET [217] (p. 15) utilise pour l'hydrolyse de ce sucre une poudre fermentaire, riche en maltase, préparée avec le mycelium de *Mucor BOULARD*. Nous avons préféré dans nos recherches la poudre de pancréas préconisée par Mlle C. BOURDOUIL [31].

Dans nos calculs. nous avons emprunté à R. FRANQUET ([217] p. 16), la technique suivante :

« Pour estimer à quelles quantités de maltose correspondent les diverses valeurs de la différence de R_3-R_2 (R_3 étant le réducteur après traitement par la poudre de pancréas et R_2 le réducteur après action de l'émulsine des amandes), le mieux est de construire une courbe en utilisant les tables établies par G. BERTRAND [13] pour le maltose et le glucose.

Un exemple montrera comment peut se calculer chaque point de cette courbe.

Soient 10 mg. de maltose anhydre : d'après les tables, ils précipitent directement 11 mg.,2 de cuivre (R_2) ; la poudre de pancréas les transforme en 10 mg.,52 de glucose donnant 21 mg.,4 de cuivre (R_3). L'hydrolyse de 10 mg. de maltose se traduit donc par un accroissement du pouvoir réducteur (R_3-R_2) égal à 10 mg.,2 de cuivre. En continuant de même pour des poids connus de maltose compris dans les limites de sensibilité de la méthode de BERTRAND, il est facile de dresser une table donnant pour certaines valeurs de la différence R_3-R_2 les quantités correspondantes de maltose.

On peut ainsi connaître, avec une approximation suffisante, pour des recherches physiologiques, la teneur en maltose des liqueurs extractives ».

Voici comment nous avons établi les proportions de nos glucides.

1° Le dosage des sucres réducteurs initiaux, au moyen de la liqueur cupro-alcaline, permet d'obtenir hexoses et maltose.

2° L'action de la sucrase de l'invertine donne une augmentation des matières réductrices qui correspond, pour la majeure partie, au saccharose et, pour des traces seulement, au polyholoside inconnu.

3° L'action de l'émulsine des amandes se manifeste par la transformation complète en oses du polyholoside précédent, hydrolysé, en partie déjà, par la sucrase.

4° L'addition de la poudre de pancréas à ce mélange glucidique ne touche plus, parmi les glucides, qu'au maltose, qu'il est facile par suite d'évaluer.

5° La quantité de maltose une fois connue, on obtient celle des oses initiaux en retranchant du pouvoir réducteur primitif, la part qui revient au maltose (exprimé en glucose).

Dans tous ces dosages, il est possible de vérifier approximativement, les résultats obtenus au moyen du polarimètre en établissant l'indice de réduction enzymologique.

Cependant, pour nos calculs, nous avons déduit la teneur de nos liqueurs en maltose, en tenant surtout compte de l'augmentation du pouvoir réducteur à la suite de l'addition de maltase.

En effet, dans les solutions extractives végétales qui sont de véritables complexes, même après défécation par les sels de plomb, il faut envisager la présence, en dehors des principes glucidiques, d'autres substances plus ou moins actives sur la lumière polarisée comme par exemple l'asparagine. Or, nous ne faisons qu'entrevoir certaines actions fermentaires, et c'est ici le cas, avec un mélange de diastases encore peu connu comme la poudre de pancréas.

En ce qui concerne notre étude, nous pensons que, dans l'utilisation de ce ferment, l'augmentation des produits réducteurs est encore le meilleur critérium de l'action enzymologique sur les glucides. Les modifications polarimétriques ne peuvent nous fournir qu'un complément d'information.

Il est évident que, si l'on avait affaire à une solution pure de maltose, on devrait obtenir, après action fermentaire, une concordance exacte entre les résultats des dosages chimiques et les observations données par le polarimètre.

4° Dosage des matières amylacées.

La présence de maltose dans les tubercules de la gesse tubéreuse nous a incité à doser, non seulement les sucres, mais aussi les matières amylacées signalées depuis PARMENTIER [317], dans le *Lathyrus tuberosus* L. On sait que ces substances ne sont solubles ni dans l'alcool fort, ni dans l'eau froide.

A cet effet, nous avons utilisé le résidu résultant de l'épuisement des organes par l'alcool bouillant titrant au moins 70°. Le marc renferme toutes les substances glucidiques insolubles dans ce dissolvant ; mais il faut avoir soin de faire suivre l'épuisement alcoolique d'un traitement à l'eau glacée sous toluène, afin de s'assurer de la dissolution de tous les sucres solubles et de la présence ou de l'absence de dextroside (dextrine). L'amidon, de cette façon, n'est pas touché.

Afin d'éviter l'emploi des acides dilués, nous avons eu primitivement recours au procédé de saccharification diastasique employé par BOURQUELOT et BRIDEL [46] pour doser l'amidon dans les tubercules de *Dioscorea Macabiha*, et repris par P. GILLOT [223] dans l'étude des matières amylacées des différents organes des mercuriales.

Nous nous sommes rapidement aperçu que le maltose formé dans la dégradation amylacée, par la diastase de l'orge germé, était loin de correspondre, comme l'ont montré R. FABRE et H. PÉNAU [208], à l'hydrolyse intégrale de l'amidon. Par suite, les résultats obtenus, s'ils peuvent rester comparables, sont forcément imprécis.

Pour remédier à cet inconvénient, nous avons eu recours comme source fermentaire, non plus à la diastase, mais à la poudre de pancréas utilisée par Mlle C. BOURDOUIL [31].

Sous l'action de ce complexe fermentaire, l'amidon est hydrolysé en glucose après avoir passé par le stade maltose [208]. Cette transformation atteint dès le troisième

jour, 90 p. 100 du poids d'hexose que devrait donner une hydrolyse totale des matières amylacées.

L'auteur a vérifié qu'après six à sept jours de contact le poids de glucose libéré indique une erreur inférieure seulement à 2 p. 100.

Dans nos recherches, nous nous sommes assuré tout d'abord, de l'efficacité de la poudre de pancréas. Pour cela, nous avons dosé le sucre réducteur apparu après une semaine d'action fermentaire dans les résidus seuls, puis dans les marcs auxquels nous avons ajouté une quantité déterminée d'amidon.

Lorsque l'action diastasique est normale, le premier essai donne la teneur en matières amylacées des résidus ; le deuxième essai doit fournir le même résultat, augmenté de la quantité d'amidon ajoutée (exprimé en glucose).

Nos essais de saccharification furent préparés en traitant une quantité de marc pulvérisé, correspondant à un poids connu d'organes frais et renfermant approximativement 1 g. d'amidon, par un volume d'eau distillée suffisant pour faire 100 cm³ d'empois.

Afin d'obtenir les divers empois dans des conditions identiques, nous avons suivi les indications de GRIMBERT [241].

Le liquide, après refroidissement, est additionné de 0 g.,50 de poudre de pancréas, d'un peu de toluène, puis mis à l'étuve à 40°. Après six jours d'action diastasique, la solution filtrée puis déféquée ou non par l'extrait de Saturne, est dosée par la méthode de BERTRAND. Les sucres réducteurs sont exprimés en glucose.

Pour avoir la certitude que les matières réductrices ainsi formées résultaient de l'hydrolyse de l'amidon, nous avons préparé un empois témoin, sans addition de poudre de pancréas. Le liquide filtré obtenu était visqueux, de couleur jaune sale et ne renfermait pas de produits réducteurs.

5° Extraction et identification de l'asparagine gauche.

Dans l'extraction directe des sucres des tubercules de la gesse tubéreuse, nous avons solubilisé l'extrait, après le huitième épuisement par l'alcool à 95°, dans de l'alcool méthylique à 70 p. 100.

Deux années plus tard, en reprenant cette solution, nous avons constaté, dans le fond du flacon, un abondant dépôt amorphe de saveur fade, non sucrée. Comme nous avions extrait précédemment l'asparagine des racines de la gesse sauvage, nous avons songé de suite à ce produit. Les résidus amorphes ont été repris par 50 cm³ d'eau bouillante qui a tout solubilisé. Après vingt-quatre heures de repos, il s'est formé en milieu aqueux, une cristallisation magnifique. Les cristaux obtenus furent lavés plusieurs fois à l'alcool absolu, dans lequel ils sont insolubles, puis essorés et séchés à l'air libre.

Etude des cristaux : Propriétés physiques. — Le produit se présente en cristaux orthorhombiques, incolores, transparents, de saveur fade. C'est un corps azoté qui fond au bloc de MAQUENNE en se décomposant à 225°.

Par chauffage à 105°, il perd 11,8 p. 100 de son poids. (Perte théorique pour l'asparagine : 12 p. 100).

Son pouvoir rotatoire déterminé en solution aqueuse est de :

$$[\alpha]_D = -5^{\circ},68$$
$$(p = 0,41 \quad v = 20 \quad l = 2 \quad \rho = -14')$$

et dans la solution chlorhydrique au dixième :

$$[\alpha]_D = +37^{\circ},36$$
$$(p = 0,205 \quad v = 20 \quad l = 2 \quad \rho = +46')$$

Nous avons également établi sa solubilité dans l'eau. Une partie du produit se dissout dans 103,8 parties d'eau à 0°, GUARESCHI [242] avait trouvé 105,3 parties pour l'asparagine. Enfin les cristaux sont insolubles dans l'alcool absolu froid, l'éther et l'huile.

Les caractères organoleptiques et physiques permettent de les identifier avec l'*asparagine gauche* ; l'*asparagine droite* ayant d'ailleurs une saveur légèrement sucrée.

Propriétés chimiques. — Ce corps étant l'amide de l'acide aspartique colore faiblement en rouge le tournesol bleu.

Il est très soluble dans les acides et les alcalis.

Additionnée d'acide sulfurique et d'un peu de résorcine, la liqueur prend une coloration jaune verdâtre. Par dilution aqueuse et saturation au moyen d'ammoniaque ou de soude, la solution devient fluorescente. (MOULINS [311]).

BEHRENS [5], d'après BOURQUELOT et HÉRISSEY [69], a donné une réaction que nous avons obtenue facilement : On traite le liquide étendu dans un petit cristalliseur par une solution diluée de sulfate de cuivre en présence de quelques gouttes d'ammoniaque, puis on ajoute un peu d'alcool à 95°. Par repos et évaporation de l'alcali en excès, il se dépose, en moins d'un jour, une combinaison cuivrique, facilement caractérisable au microscope si l'on a fait une expérience simultanée avec un échantillon type.

Il est possible également, en suivant une technique différente de G. BERTRAND ([21] p. 255), de caractériser l'*asparagine* par hydrolyse et formation d'aspartate de cuivre. Nous avons ajouté à notre solution à examiner, au titre de 2 p. 100, trois pastilles de potasse. On a porté le tout au bain-marie bouillant durant trente minutes. Il s'est produit d'abord un dégagement d'ammoniaque ; il a suffi de neutraliser ensuite le liquide exactement par l'acide acétique cristallisable, d'ajouter un à deux cm³ d'une solution d'acétate de cuivre à 10 p. 100, pour obtenir par refroidissement, après amorçage et agitation, une cristallisation d'un beau bleu clair, d'aspartate de cuivre peu soluble.

Dosage. — 1° par acidimétrie. Nous avons employé la méthode de SÖRENSEN, modifiée selon les indications plus récentes de MESTREZAT [301]. En opérant ainsi, en présence de formol, 0 g.,50 de produit cristallisé ont fixé 0 g.,168 de soude (Théorie pour l'asparagine : 0 g.,160).

On pourrait également se servir du procédé indiqué par G. BERTRAND ([21], p. 256).

2° Par la méthode de VAN SLIKE, basée sur la décomposition des acides aminés par l'acide nitreux, avec mise en liberté d'azote.

Nous avons utilisé, pour ce dosage, un simple uréomètre, en tenant compte du fait que le volume d'azote dégagé est le double de celui de l'acide aminé. Nous avons effectué simultanément le dosage à blanc, afin de déterminer l'erreur provenant de l'impureté des réactifs. Les chiffres trouvés sont les mêmes pour le produit extrait du *Lathyrus tuberosus* L. et pour l'échantillon d'asparagine pure.

L'identité des cristaux isolés, avec l'asparagine gauche, ne peut donc faire aucun doute.

Discussion des résultats. Généralités sur l'asparagine.

L'asparagine ou asparamide $C^4H^5N^2O^3H^2O$, découverte en 1805 par VAUQUELIN et ROBIQUET [370], se trouve assez communément dans les végétaux, mais en général dans les jeunes pousses et les racines.

En ce qui concerne les *Lathyrus*, elle a été signalée par DESSAIGNES [202] dans les tiges étiolées des *Lathyrus odoratus* et *latifolius*, espèces que nous n'avons d'ailleurs pas étudiées. A notre connaissance, elle n'avait pas encore été identifiée dans les tubercules de la gesse tubéreuse.

Nous avons songé à rechercher les proportions de cet amide dans nos liqueurs extractives. On peut employer, à cet effet, soit le procédé de SCHULZE [348] au nitrate mercurique, soit le procédé de SACHSSE [345] au bichlo-

rure de mercure. L'asparagine se combine aux sels de mercure ; ceux-ci éliminent d'autre part, les matières protéiques entrées en solution. Il suffit de concentrer les liqueurs et de précipiter le métal par l'hydrogène sulfuré ; il ne reste plus qu'à faire un dosage d'azote sur la solution convenablement réduite. Il faut toutefois que le liquide extractif soit exempt d'autres substances solubles, susceptibles de dégager de l'azote avec l'acide nitreux.

L'existence, dans les tubercules analysés, d'une quantité appréciable de produits aminés, nous a empêché d'effectuer ces dosages.

Il est à remarquer, que la présence d'asparagine, en forte quantité, peut être une cause d'erreur dans les lectures polarimétriques. Nous estimons cependant que, dans nos extraits, les faibles proportions de ce produit sont incapables d'altérer la valeur des résultats obtenus, surtout au point de vue comparatif. On peut d'ailleurs remédier à cet inconvénient, comme l'ont montré P. CHAMPION et H. PELLET [161] pour la betterave, en additionnant les solutions extractives d'un peu d'acide acétique, après le premier examen en lumière polarisée.

En ce qui concerne les essais biochimiques, il est peu probable que l'asparagine soit dédoublée. GEDDES et HUNTER [218] ont indiqué en effet, en 1928, que la désamidase active sur l'asparagine, est détruite rapidement par l'alcool, par l'acétone et même par simple conservation à la température de 30°.

Cette diastase existe dans la levure des boulangers et transforme l'asparagine en aspartate d'ammoniaque.

Quant au rôle de l'asparagine chez les végétaux, la question a été bien étudiée, en 1924, par PRIANICHNIKOV [328], qui en a fait une excellente mise au point.

L'asparagine se forme par synthèse secondaire, à partir de l'ammoniaque qui provient de l'oxydation des acides aminés, et de combinaisons ternaires. Il se produit ainsi des substances neutres, non nocives pour la cellule. Nous avons remarqué en effet, dans les tubercules de la gesse, une très forte proportion de substance ami-

née, différente de l'asparagine et que nous n'avons pas encore isolée [226].

L'ammoniaque constituerait ainsi le commencement et la fin de toutes les transformations des matières azotées dans la plante.

L'asparagine ne formerait par suite, qu'une étape intermédiaire, soit dans la synthèse qui s'effectue de l'ammoniaque vers les acides aminés puis les matières albuminoïdes, soit dans la régression des protéines revenant par les acides aminés à l'asparagine. On conçoit aisément ces transformations, conditionnées par les besoins multiples et variables de la plante aux différentes époques de sa végétation annuelle.

III. — Etude biochimique des tiges foliées et des fleurs.

Comparativement à l'étude des racines, nous avons effectué l'essai biochimique des tiges foliées et des fleurs du *Lathyrus tuberosus* L.

Voici les résultats obtenus :

		Tiges foliées (avril)	Fleurs (juin-août)
		—	—
Déviation (l = 2)	{ Initiale.....	+ 49'	— 20'
	{ Après action de l'invertine...	— 46'	— 1°49'
	{ Après action de l'émulsine...		— 59'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{ Initial.....	0 g.,295	1 g.,575
	{ Après action de l'invertine...	1 g.,416	2 g.,032
	{ Après action de l'émulsine...		2 g.,490
Par l'invertine	{ Changement de rotation (recul)	1°35'	59'
	{ Sucre réducteur formé.....	1 g.,121	0 g.,457
	{ Indice de réduction.....	709	464
Par l'émulsine	{ Changement de rotation (retour)		20'
	{ Sucre réducteur formé.....		0 g.,458
	{ Indice de réduction.....		1375

Tiges foliées : L'essai nous a donné des indications très générales.

L'action de l'invertine décèle l'hydrolyse d'un holo-side, dont l'indice est trop élevé pour correspondre à celui du saccharose. Toutefois, les deux indices sont voisins au mois de mai.

Fleurs : Les fleurs de la gesse tubéreuse s'épanouissent du mois de juin au mois d'août. Très abondantes, elles sont odorantes et d'un joli rose vif. Elles fournissent une liqueur qui reste constamment lévogyre et sur laquelle l'invertine et l'émulsine se montrent particulièrement actives.

Malheureusement, l'insuffisance des matières premières nous a contraint d'arrêter nos travaux, mais nous nous proposons de tenter, par la suite, l'isolement des hétérosides et du sucre hydrolysable qui, d'après son indice (464), doit être différent du saccharose. Les quantités de sucre réducteur obtenues indiquent, en effet, une proportion d'oside bien suffisante pour en permettre l'extraction.

IV. — Etude des graines.

Généralités.

De nombreux travaux ont été déjà effectués sur les glucides des graines de Légumineuses. Certains ont utilisé, pour ces recherches, des méthodes analytiques purement chimiques, tandis que d'autres se sont servis des procédés biochimiques précédemment décrits.

C'est ainsi que G. TANRET [361] a extrait du saccharose et du stachyose des graines de haricot de Soissons, de soja, de lentille, de pois, de galéga, de trèfle rouge, de lupin jaune. Cet auteur a montré en outre, que le lupéose de SCHULZE était tout simplement du stachyose.

H. HÉRISSEY [258] a isolé, en 1903, le saccharose des graines du févier d'Amérique. Quelques années plus

tard, E. BOURQUELOT et M. BRIDEL [47] ont retiré le raffinose des semences d'*Erythrina fusca* Lour. et d'*Entenda Scandens* Benth., et ont indiqué comment l'analyse biochimique pouvait s'appliquer à la recherche de cet oside. Les recherches les plus récentes concernant ces glucides ont été faites par H. HÉRISSEY et R. SIBASSIÉ [277-351] qui ont obtenu le saccharose du sainfoin ordinaire, de l'arachide, de la fève des Marais, du jequirity et du soja ; le raffinose de l'anthyllis vulnérable, du sainfoin d'Espagne et de l'acacia de Constantinople ; enfin le stachyose de la luzerne de Provence, du fenugrec, de l'indigo des teinturiers, du sophora du Japon, du soja, du haricot dolique et du fèvier d'Amérique.

Description des graines.

Les graines de la gesse tubéreuse sont globuleuses ou subsphériques ; elles ont une teinte violet pourpre. Leurs téguments semblent lisses, mais ils offrent, quand on les regarde à la loupe, de très fines saillies tuberculeuses assez espacées. La tache hiloïde jaunâtre, linéaire, égale environ le tiers ou la moitié de la circonférence de la graine ; le début du raphé est indiqué par une dépression allongée. Le micropyle est peu visible, mais la saillie radiculaire est très nette, composée de deux légères protubérances aplaties, tournées vers la tache hiloïde, comme les deux pans d'un habit (CAPITAINE [160]).

Essai biochimique des graines.

L'essai biochimique nous a donné les résultats suivants :

Déviatiôn	{	Initiale.....	+ 10°30'
(l = 2)	{	Après action de l'invertine.....	+ 7°10'
	{	Après action de l'émulsine.....	+ 5°30'
Sucre réducteur	{	Initial.....	0 g.,070
(p. 100 cm ³)	{	Après action de l'invertine.....	2 g.,555
	{	Après action de l'émulsine.....	3 g.,265

Par l'invertine	{	Changement de rotation (recul)....	3°20'
		Sucre réducteur formé.....	2 g., 485
		Indice de réduction	745
Par l'émulsine	{	Changement de rotation (recul) ...	1°40'
		Sucre réducteur formé.....	0 g., 710
		Indice de réduction	426

Il est intéressant de signaler que la solution extractive examinée, était dénuée de toute saveur sucrée, bien que l'observation polarimétrique ait indiqué la présence d'osides de pouvoir rotatoire élevé.

Après action de l'invertine, nous constatons que l'indice de réduction (745) ne correspond pas à celui des sucres habituellement étudiés. Par contre, en tenant compte uniquement du recul de la déviation et en utilisant les coefficients hydrolytiques (1) donnés par R. SIBASSIÉ, nos chiffres sont voisins de la constante trouvée pour le stachyose. En multipliant 10°,50, rotation primitive, par 0,689, on trouve en effet, 7°,23, (au lieu de 7°,16).

En admettant que le sucre étudié soit du stachyose, le manninotriose, triholoside réducteur formé à ses dépens au cours de l'action fermentaire de l'invertine, doit être hydrolysé par l'émulsine, avec libération d'un mélange de deux molécules de galactose et d'une molécule de glucose (VINTILESCO [376]).

Or, nous constatons ici une diminution de la rotation droite et l'augmentation corrélatrice des sucres réducteurs. L'indice de réduction enzymolytique théorique du manninotriose est de 386. Nous avons trouvé 426. Ces chiffres sont assez voisins ; ils nous ont incité à rechercher le stachyose.

(1) « On désigne sous le nom de « *coefficient hydrolytique d'un sucre vis-à-vis d'un ferment considéré* » le rapport qui existe entre la rotation polarimétrique d'une solution aqueuse de ce sucre pur et la rotation de la même solution qui a été soumise à l'action complète hydrolysante du ferment ».

Les coefficients hydrolytiques du stachyose et du raffinose, par rapport à l'invertine, sont respectivement 0,689 et 0,526.

L'essai biochimique ayant indiqué une proportion relativement grande d'holoside, nous en avons tenté l'extraction.

*Extraction et identification d'un holoside hydrolysable.
Stachyose.*

Nous avons utilisé 110 g. de graines de gesse tubéreuse selon la technique suivante : Après broyage au moulin et réduction en poudre fine, les graines sont épuisées, à trois reprises différentes, par de l'alcool à 70° bouillant. Les solutions alcooliques réunies sont filtrées, puis concentrées jusqu'à résidu sec, dans le vide et à basse température. On reprend le résidu par l'eau distillée et le liquide obtenu, est déféqué par l'extrait de Saturne. Après filtration, on peut éliminer le plomb, par addition ménagée d'acide sulfurique dilué au dixième. L'excès d'acide se signale d'ailleurs immédiatement par la clarification du mélange, que l'on additionne ensuite d'un peu de carbonate de calcium. L'acide acétique, provenant du sous-acétate, est enlevé par agitation de la solution avec de l'éther.

Dans nos expériences, la liqueur aqueuse, concentrée au cinquième de son volume environ, a d'abord été traitée par une grande quantité d'alcool à 80° ; cette addition a provoqué la formation d'un abondant dépôt de nature minérale. La solution, ramenée ensuite au tiers de son poids de matière sèche, fut reprise par de l'alcool à 95°, puis par de l'alcool absolu.

L'avantage de ces précipitations alcooliques fractionnées, est d'éviter les pertes en glucides, qui se produisent, lorsqu'on opère sur de faibles quantités de matières premières.

Le précipité formé, redissous dans l'eau, possédait un pouvoir rotatoire spécifique de $[\alpha]_D = + 110^\circ$, tandis que les produits restés en solution dans l'alcool, donnaient : $[\alpha]_D = + 80^\circ 12'$.

L'holoside de pouvoir rotatoire élevé, a été purifié, par

combinaison barytique, selon la méthode de Ch. TANNERET.

Finalement, après de nombreuses manipulations, nous avons obtenu, en solution alcoolique à 85°, une cristallisation très lente. Voici les principaux caractères de ce glucide purifié : Son pouvoir rotatoire spécifique est :

$$[\alpha]_D = + 130^{\circ}24'$$

Il ne réduit pas la liqueur cupro-potassique. Traité par l'acide nitrique de densité 1,15, suivant les indications de G. BERTRAND ([21], p. 79), il fournit de l'acide mucique.

Pour identifier avec certitude notre produit, nous avons soumis simultanément à l'hydrolyse acide et à l'hydrolyse fermentaire, d'une part, les cristaux isolés précédemment et, d'autre part, du stachyose pur retiré par nous des crosnes du Japon (*Stachys tubrifera*).

Les résultats furent absolument identiques. Le glucide isolé des graines de la gesse tubéreuse, est donc bien un tétraholoside : le *stachyose*.

La présence de ce sucre n'a d'ailleurs rien d'étonnant, si l'on se reporte aux travaux de R. SIBASSIÉ [351]. Cet auteur, en effet, a signalé, puis extrait, en 1927, le stachyose et le raffinose d'un grand nombre de graines de la famille des Légumineuses. Toutefois, le genre *Lathyrus* n'avait pas encore été étudié.

§ II. — VARIATIONS DES OSES ET DES OSIDES AU COURS DE LA VÉGÉTATION ANNUELLE DU *LATHYRUS TUBEROSUS* L.

1° Biologie de la plante.

Pour bien comprendre les transformations qui s'opèrent à l'intérieur des tissus, il est nécessaire de résumer, au préalable, la biologie de la plante. Nous nous contenterons d'une description sommaire, car la morphologie

externe de la gesse tubéreuse est connue depuis très longtemps, et les parties souterraines ont été fort bien décrites par TRAGUS [364], dès 1559.

Si l'on excepte V. HARLAY [254], qui, par erreur, indique la gesse tubéreuse comme annuelle, nous sommes d'accord avec Th. IRMISCH [280], ROYER [343] et SEIGNETTE [349], qui signalent que le *Lathyrus tuberosus* L. est vivace par sa racine.

L'évolution de la plante, en partant de la graine, peut se résumer de la façon suivante :

Les graines, fort peu nombreuses, comparativement à l'abondance des fleurs, germent facilement au printemps ou en été, quand elles sont semées à maturité. La plantule possède un axe hypocotylé très court, qui se confond bientôt, en un renflement, avec l'axe épicotylé.

Dès la germination, les cotylédons possèdent de petits bourgeons à leur aisselle, et ceux-ci se développent pendant l'automne, en stolons souterrains horizontaux.

Au-dessus des cotylédons, se trouvent deux ou plusieurs feuilles en écailles, de l'aisselle desquelles partent assez rapidement des tiges feuillées. Le pivot souterrain tubéreux donne naissance à des racines adventives, qui mettront trois ou quatre ans pour développer complètement leurs tubercules (ROYER [343]).

Au printemps de l'année suivante, l'extrémité de certains stolons souterrains se développe en rameaux feuillés, qui peuvent fleurir. Dès la deuxième année, les axes souterrains se ramifient fréquemment, tandis que le tubercule initial disparaît ou grossit durant l'été. Si ce tubercule persiste, il peut vivre plusieurs années, pendant lesquelles son sommet conserve la faculté d'émettre de nouveaux rejets souterrains, qui deviendront indépendants par production de racines adventives. Ainsi, par relais, la plante peut s'étendre facilement sur une large surface. On la signale comme habituellement isolée çà et là ; nous avons récolté sur un espace de 20 m², plus de 40 kg. de tubercules, dans un champ labouré annuellement. Les organes souterrains de la gesse avaient persis-

té, malgré le défrichage régulier, en descendant à plus de cinquante centimètres dans le sol.

Les tubercules sont de poids et de grosseurs variables. Ils ne dépassent guère 45 g. et présentent habituellement une extrémité filiforme. Ils sont généralement de couleur noire, mais nous avons eu l'occasion d'en trouver quelques exemplaires absolument blancs.

C'est principalement la deuxième année que se forme la majeure partie de ces renflements, productions essentiellement radicales. Leur écorce est très mince ; elle est suivie immédiatement par un tissu cellulaire rempli, surtout l'été, de petits grains d'amidon. Ces tubercules possèdent, à leur centre, un mince faisceau libéro-ligneux.

Après trois ou quatre années de vie active, ou, plus rapidement, si l'on essaie de propager le végétal par ses parties souterraines, celles-ci se flétrissent et se vident complètement pour produire la plante nouvelle, qui reformera des tubercules sur ses racines adventives.

2° Recherche et identification des ferments.

Les matières de réserve glucidiques ne sont pas toutes directement assimilables. Pour participer à la nutrition de la plante, il leur faut subir une dissociation spéciale, qui doit se produire sous l'action des ferments. L'existence des diastases est donc liée, dans les végétaux, à la présence et surtout à l'utilisation des matériaux de réserve. La recherche des enzymes est un complément nécessaire de celles des glucides ; elle permet de mieux comprendre l'ensemble des transformations qui s'opèrent dans la plante.

Nous avons donc recherché, dans les tubercules, les produits fermentaires capables d'agir sur les holosides et les hétérosides.

Voici les résultats obtenus en utilisant, soit le suc fourni par l'expression des tubercules frais, soit la poudre fermentaire :

Le suc de *Lathyrus tuberosus* L. ne colore pas l'eau gaïacolée, mais l'addition d'eau oxygénée fait apparaître une coloration rouge intense, caractéristique d'une *peroxydase*.

Ajouté, à raison de 10 p. 100, à des solutions thymolées renfermant : l'une 1 p. 100 de saccharose, l'autre, 1 p. 100 de salicoside, il a déterminé en quelques jours, dans la première solution, un recul vers la gauche de 1°, dans la seconde, un retour à droite de 30'. Ces résultats indiquent la présence de *glucidases de l'invertine et de l'émulsine*.

Mélangé, dans la même proportion et en présence de toluène, à un empois contenant 1 p. 100 d'amidon, le suc des tubercules de *Lathyrus tuberosus* L. a provoqué, en 8 jours de contact à 35°, la formation de 0 g.,736 de sucre réducteur. Les organes examinés contiennent, par suite, de l'*amylase*.

Enfin, en faisant agir la poudre fermentaire de gesse tubéreuse sur une solution aqueuse à 1 p. 100 de maltose, dans les mêmes conditions expérimentales, nous avons obtenu, en une semaine, une hydrolyse de 63 p. 100 du glucide et un dédoublement presque total en quelques mois. La plante renferme donc de la *maltase*.

3° Variations annuelles des oses et des osides du *Lathyrus tuberosus* L.

La présence simultanée dans les tubercules, de plusieurs glucides (glucose, maltose, saccharose et polyholside), nous a incité à suivre les variations approximatives de ces différents produits, durant le cycle annuel de la plante.

Nous avons essayé de mettre en évidence, les principales transformations que subissent ces principes immédiats, au cours de la végétation.

Jusque là, aucun essai de ce genre n'avait été tenté, sur un mélange aussi complexe, par les méthodes biochimiques,

Afin d'obtenir des résultats comparables, les divers échantillons soumis à l'analyse (feuilles et racines), furent récoltés dans un seul champ, à Châlons-sur-Marne.

Les plantes furent arrachées le matin, aux mêmes heures, et transportées à Nancy, où nous les avons stabilisées le jour même par l'alcool bouillant.

Les essais biochimiques, qui ont déjà été fournis pour l'étude des tubercules et des tiges foliées, rentrent dans la série des variations que nous avons établies ; ils sont condensés dans un tableau récapitulatif. Afin qu'aucune phase importante de la végétation ne puisse passer inaperçue, nous avons procédé chaque mois à l'analyse de la gesse.

Le cycle végétatif du *Lathyrus tuberosus* L. peut être divisé en deux phases :

1° Une période de vie uniquement souterraine, s'étendant de la fin de septembre à la fin de mars.

2° Une période de végétation aérienne, comprise, pour l'année considérée, d'avril à septembre, c'est-à-dire de l'apparition des tiges feuillées jusqu'à leur disparition.

1° PÉRIODE DE VIE UNIQUEMENT SOUTERRAINE.

Le *tableau I* concerne les tubercules de la plante. La première récolte date de septembre, dès la disparition des tiges foliées, après la période de sécheresse anormale du mois d'août.

A cette époque, l'accumulation des réserves vient d'atteindre son maximum, ce qui explique l'abondance des matières amylacées et du maltose. Par contre, à la même date, le saccharose atteint sa plus faible teneur annuelle. Il faut remarquer également, la quantité très élevée de sucre réducteur initial, due probablement à la présence de maltose en plus forte proportion.

L'évolution souterraine va se poursuivre lentement pendant l'automne et l'hiver.

En octobre et novembre, la persistance d'un temps pluvieux et doux provoque une reprise momentanée de la végétation,

Résultats fournis p. 100 g. d'organes frais

Résultats fournis p. 100 g. d'organes frais									
	5 septemb.	4 octobre	29 novemb.	29 décemb.	9 janvier	6 février	15 mars		
Déviation (1 = 2)	{ initiale après invertine après émulsine après poudre de pancréas.....	{ 8°28' — 1°34' — 2°7' — 2°35'	{ 10°58' + 0°40' + 0°15' — 1°32'	{ 9°30' — 1° — 1°26' — 2°8'	{ 9°12' — 1°22' — 1°40' — 2°4'	{ 8°59' — 1°39' — 1°56' — 2°12'	{ 9°23' — 1°10' — 1°25' — 1°59'		
	Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{ initial après invertine après émulsine après poudre de pancréas.....	{ 0 g., 374 6 g., 664 6 g., 805 6 g., 944	{ 0 g., 702 7 g., 087 7 g., 150 7 g., 625	{ 0 g., 417 7 g., 150 7 g., 245 7 g., 427	{ 0 g., 350 6 g., 892 6 g., 965 7 g., 057	{ 0 g., 283 6 g., 570 6 g., 635 6 g., 699	{ 0 g., 344 6 g., 760 7 g., 828 6 g., 948	
		Par l'invertine	{ changement de rotation (recul). sucre réducteur formé indice de réduction.....	{ 10°2' 6 g., 290 626	{ 10°18' 6 g., 385 649	{ 10°30' 6 g., 733 641	{ 10°34' 6 g., 512 649	{ 10°38' 6 g., 287 591	{ 10°33' 6 g., 419 608
			Par l'émulsine	{ changement de rotation (recul). sucre réducteur formé indice de réduction.....	{ 33' 0 g., 144 250	{ 25' 0 g., 063 151	{ 26' 0 g., 095 219	{ 18' 0 g., 073 243	{ 17' 0 g., 065 232
Par la poudre de pancréas	{ changement de rotation (recul). sucre réducteur formé indice de réduction.....	{ 28' 0 g., 136 292		{ 1°17' 0 g., 475 265	{ 42' 0 g., 182 260	{ 24' 0 g., 092 230	{ 16' 0 g., 064 241	{ 34' 0 g., 120 242	
	Ose initial.	0 g., 496	0 g., 302	0 g., 422	0 g., 320	0 g., 303	0 g., 251	0 g., 278	
Maltose	0 g., 557	0 g., 134	0 g., 527	0 g., 182	0 g., 090	0 g., 060	0 g., 118		
Saccharose et polyholoside (exprimé en sucre inverti)	3 g., 51	6 g., 290	6 g., 380	6 g., 730	6 g., 540	6 g., 280	6 g., 410		
Amidon	10 g., 428	5 g., 640	6 g., 400	5 g., 780	3 g., 240	2 g., 640	3 g., 620		

Variations glucidiques dans la composition des tubercules (*Période de vie uniquement souterraine*).

Nous assistons déjà à une chute brusque de la teneur des tubercules en amidon et en maltose ; nous voyons simultanément la quantité de saccharose doubler, pour atteindre bientôt un maximum, duquel elle ne s'écartera pas beaucoup durant l'hiver.

En nous reportant au *tableau I*, ou de préférence au graphique donnant la courbe annuelle des variations glucidiques du *Lathyrus tuberosus* L. (1), on constate durant les mois d'hiver : décembre, janvier et février une décroissance graduelle du sucre réducteur initial, de l'amidon et du maltose. Pendant ce temps, le saccharose, qui vient d'atteindre son maximum annuel en décembre, diminue d'une façon à peine sensible, par rapport aux variations des autres glucides.

Février, mois très froid, marque l'achèvement du stade de repos de la plante. Exception faite du saccharose, nous y trouvons tous les minima.

Ces modifications se traduisent, dans nos essais, par l'apparition, après action de l'invertine, de la déviation la plus lévogyre de toute l'année. C'est la fin de la période hivernale de la gesse tubéreuse. Elle est indiquée par l'épuisement des réserves amylacées, en relation, semble-t-il, avec la teneur en saccharose. Ce dernier glucide paraît être l'élément essentiel, que la plante utilise, sous forme d'oses assimilables, lors de la reprise de l'activité aérienne.

Sans s'extérioriser, la végétation se manifeste nettement en maïs, époque où nous constatons le développement accentué de petits rameaux souterrains. Tous les éléments osidiques, sauf le saccharose, sont en progression marquée.

2° PÉRIODE DE VÉGÉTATION AÉRIENNE.

Durant la période de végétation aérienne, qui s'étend du mois d'avril au mois de septembre, nous avons distingué trois phases :

(1) Voir p. 151,

1° *Phase. Constitution de l'appareil aérien (avril à mai).*

2° *Phase. Floraison : (juin à juillet).*

3° *Phase. Fructification : (août).*

1° *Phase. Constitution de l'appareil aérien (avril à mai).*

Les premières tiges foliées, apparues fin mars, se développent rapidement en avril, de sorte que la plante se trouve en mai en pleine activité assimilatrice (*Tableau II* p. 144).

a) *dans les organes souterrains*, on observe, par suite du développement rapide des tiges feuillées, une diminution de la réserve, jusqu'alors stable, du saccharose. On assiste, en même temps, à une augmentation du sucre réducteur initial. Durant la même période, on constate l'accroissement des matières amylacées et la progression du maltose. Cet emmagasinement semble bien provenir, comme l'ont montré, depuis longtemps, les physiologistes, des glucides élaborés par les parties aériennes.

b) *dans les tiges foliées*, dont nous ignorons la nature des oses et des osides, on peut noter, durant ces deux mois, le phénomène inverse ; c'est-à-dire, une diminution sensible du sucre réducteur initial et une augmentation très faible des osides hydrolysables par l'invertine.

2° *Phase. Floraison (juin à juillet).*

La floraison commence à la fin du mois de juin et se poursuit activement pendant une partie du mois de juillet.

a) *dans les organes souterrains*, on assiste à une augmentation constante du sucre réducteur initial, et à une légère diminution de la proportion de saccharose. Le mois de juin est marqué par d'importantes modifications dans l'allure des variations des diverses substances glucidiques.

TABEAU II.

Résultats fournis p. 100 g. d'organes frais		9 avril		10 mai	
		Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles
Déviation (1 = 2)	initiale	+ 8°8'	+ 0°49'	+ 9°1'	+ 0°59'
	{ après invertine.....	— 0°59'	— 0°46'	+ 0°46'	— 1°6'
	{ après émulsion	— 1°10'	— 0°20'	+ 0°20'	
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{ après poudre de pancréas.....	— 1°33'	— 1°10'	— 1°10'	
	initial	0 g., 395	0 g., 295	0 g., 573	0 g., 194
	{ après invertine.....	6 g., 115	1 g., 417	5 g., 557	1 g., 457
	{ après émulsion	6 g., 460		5 g., 682	
Par l'invertine	{ après poudre de pancréas.....	6 g., 263		6 g., 952	
	changement de rotation.....	9°7'	4°35'	8°15'	2°5'
	{ sucre réducteur formé	5 g., 720	1 g., 122	4 g., 984	1 g., 262
Par l'émulsion	{ indice de réduction.....	627	708	599	606
	changement de rotation	41'		26'	
	{ sucre réducteur formé.....	0 g., 045		0 g., 125	
Par la poudre de pancréas	{ indice de réduction	245		288	
	changement de rotation.....	23'		4°30'	
	{ sucre réducteur formé.....	0 g., 103		0 g., 270	
Ose initial	{ indice de réduction	271		180	
	changement de rotation.....				
	{ sucre réducteur formé.....				
Maltose.....		0 g., 344	0 g., 295	0 g., 422	0 g., 194
Saccharose et polyholoside (exprimé en sucre inter-verti)		0 g., 101		0 g., 284	
Amidon		5 g., 720	1 g., 122	4 g., 984	1 g., 262
		4 g., 620		5 g., 490	

Variations glucidiques au cours de la période de végétation aérienne
1^o Phase (avril-mai).

Le fait est intéressant à signaler, car il n'est pas limité à cette gesse. H. WIOLAND [390], dans l'étude de la potentille rampante, a constaté un phénomène semblable ; on note un affaiblissement des réserves, de courte durée, sur la plante prête à fleurir. Avec juillet, l'accumulation de l'amidon reprend son cours, ainsi que celle du maltose, qui paraît suivre, sauf en de rares exceptions, les variations amylofères.

b) *dans les organes aériens*, la préparation de la floraison a provoqué une diminution sensible des oses et des osides, mais, dès l'épanouissement des fleurs, on constate la réapparition de ces mêmes glucides, dont les proportions restent ensuite sensiblement stables jusqu'au mois d'août (*Tableau III*).

3° Phase. Fructification (août).

Le mois d'août marque la fin de la floraison et la fructification. L'appareil aérien a acquis son maximum de développement. Le sucre réducteur initial diminue peu à peu avec l'activité assimilatrice ; le maltose subit une légère décroissance, tandis que les proportions d'amidon augmentent de plus en plus. Les matières amylacées approchent d'ailleurs de leur maximum de septembre.

Néanmoins, si nous considérons ce mois dans le cycle végétatif, il apparaît comme exceptionnel. En effet, une sécheresse extraordinaire a provoqué l'arrêt à peu près complet de la végétation aérienne, avec dessiccation des feuilles, dans le lieu où nous faisons nos récoltes. Par suite, les mois de septembre et d'octobre, doux et humides, ont amené une reprise de l'activité de la plante. Le métabolisme des glucides s'est trouvé de ce fait immédiatement modifié. Il suffit de se reporter au tableau général, pour s'en rendre compte (Voir p. 148).

TABEAU III.

Résultats fournis p. 100 g. d'organes frais	13 juin		12 juillet		11 août	
	Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles	Tubercules	Feuilles
Déviation (l = 2)						
	{ initiale	+ 7°29'	+ 8°2'	+ 0°15'	+ 6°36'	+ 6°30'
	{ après invertine.....	+ 0°59'	+ 1°19'	— 0°16'	+ 0°33'	— 0°42'
	{ après émulsion.....	+ 0°40'	— 0°16'	— 0°46'	+ 0°14'	— 1°06'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)						
	{ initial	0 g., 793	0 g., 164	0 g., 852	0 g., 544	0 g., 317
	{ après invertine.....	4 g., 873	0 g., 550	5 g., 308	1 g., 222	1 g., 225
	{ après émulsion.....	4 g., 956	5 g., 430	5 g., 430	4 g., 357	4 g., 357
Par l'invertine						
	{ après poudre de pancréas	5 g., 152	5 g., 826	5 g., 826	4 g., 656	4 g., 656
	{ changement de rotation..	6°30'	36'	6°43'	4°1'	4°12'
	{ sucre réducteur formé....	4 g., 080	0 g., 386	4 g., 459	3 g., 712	0 g., 908
Par l'émulsion						
	{ indice de réduction.....	627	613	663	617	757
	{ changement de rotation .	19'	33'	33'	18'	18'
	{ sucre réducteur formé....	0 g., 083	0 g., 122	0 g., 122	0 g., 078	0 g., 078
Par la poudre de pancréas						
	{ indice de réduction.....	262	221	221	260	260
	{ changement de rotation..	58'	1°32'	1°32'	1°20'	1°20'
	{ sucre réducteur formé....	0 g., 496	0 g., 396	0 g., 396	0 g., 299	0 g., 299
Ose initial.....						
	{ indice de réduction.....	202	258	258	224	224
	{ changement de rotation..	0 g., 689	0 g., 464	0 g., 622	0 g., 540	0 g., 376
	{ sucre réducteur formé....	0 g., 196	0 g., 431	0 g., 431	0 g., 315	0 g., 315
Saccharose et polyholoside (exprimé en sucre interverti)						
	{ indice de réduction.....	4 g., 080	0 g., 386	4 g., 459	0 g., 712	3 g., 735
	{ changement de rotation..	5 g., 270	5 g., 900	6 g., 900	9 g., 724	9 g., 724
	{ sucre réducteur formé....	0 g., 496	0 g., 396	0 g., 396	0 g., 299	0 g., 299

Variations glucidiques au cours de la période de végétation aérienne.
2^e et 3^e phases (juin, juillet et août).

Conclusions relatives aux variations glucidiques annuelles de la gesse tubéreuse.

L'examen des résultats fournis par les douze essais mensuels (*Voir tableau IV*) montre que :

a) *dans les parties aériennes*, les extraits obtenus, ont toujours une déviation initiale dextrogyre, qui passe nettement à gauche sous l'influence de l'invertine. Les indices de réduction enzymolytique enregistrés, sont assez rapprochés de l'indice théorique du saccharose, pour qu'il soit permis de supposer, que les organes d'assimilation renferment cet oside ou l'un de ses dérivés.

b) *dans les organes de réserves*, les transformations qui s'opèrent, sont beaucoup plus complexes.

La quantité de sucre réducteur initial, déduction faite du maltose, passe par un minimum en février, lorsque la plante a épuisé ses réserves amylofères ; les conditions climatériques rigoureuses ont provoqué d'ailleurs, à cette époque, l'arrêt de toute activité végétative.

La proportion des oses s'élève ensuite graduellement jusqu'au mois de juillet, au cours duquel la plante atteint son complet développement, au moment de la floraison. La sécheresse anormale observée exceptionnellement en août, entraîne une nouvelle utilisation des réserves en septembre-octobre et quelques modifications dans les variations glucidiques. Nous voyons ensuite le sucre réducteur initial redescendre lentement, pour atteindre son point le plus bas en février.

Les variations subies par l'amidon, le maltose et le saccharose, ainsi que celles du polyholoside encore inconnu, sont plus importantes.

Durant la phase de vie uniquement souterraine, la teneur en amidon atteint un maximum en septembre (10,42 p. 100). Elle décroît lentement, sauf lors de la reprise végétative survenue en octobre-novembre, pour arriver insensiblement à son minimum de février (2,6 p. 100).

Récolte et traitement		9 avril		10 mai		15 juin		12 juillet	
		Tuberc.	Feuilles	Tuberc.	Feuilles	Tuberc.	Feuilles	Tuberc.	Feuilles
Déviation (l = 2)	initiale.....	+ 8°8'	+ 0°49'	+ 9°1'	+ 0°59'	+ 7°29'	+ 0°10'	+ 8°2'	+
	après invertine.....	— 0°59'	— 6°46'	+ 0°46'	— 1°6'	+ 0°59'	— 0°26'	+ 1°19'	—
	après émulsine.....	— 1°10'		+ 0°20'		+ 0°40'		+ 0°46'	
	après poudre de pancréas.....	— 1°33'		— 1°10'		— 0°18'		— 0°46'	
Sucre réducteur	initial.....	0 g.,395	0 g.,295	0 g.,573	0 g.,194	0 g.,733	0 g.,164	0 g.,852	0 g.,
	après invertine.....	6 g.,115	1 g.,417	5 g.,557	1 g.,457	4 g.,873	0 g.,550	5 g.,308	1 g.,
	après émulsine.....	6 g.,160		5 g.,682		4 g.,956		5 g.,430	
	après poudre de pancréas.....	6 g.,263		6 g.,952		5 g.,452		5 g.,826	
Par invertine	changement de rotation..	9°7'	1°35'	8°15'	2°5'	6°30'	36'	6°43'	
	sucre réducteur formé...	5 g.,720	1 g.,122	4 g.,984	1 g.,262	4 g.,080	0 g.,386	4 g.,459	0 g.,
	indice de réduction.....	627	708	599	606	627	643	663	
Par émulsine	changement de rotation..	11'		26'		19'		33'	
	sucre réducteur formé...	0 g.,045		0 g.,125		0 g.,083		0 g.,122	
	indice de réduction.....	245		288		262		221	
Par poudre de pancréas	changement de rotation..	23'		1°30'		58'		1°32'	
	sucre réducteur formé...	0 g.,103		0 g.,270		0 g.,196		0 g.,396	
	indice de réduction.....	271		180		202		258	
Ose initial.....		0 g.,341	0 g.,295	0 g.,422	0 g.,194	0 g.,689	0 g.,164	0 g.,622	0 g.,
Maltose.....		0 g.,101		0 g.,284		0 g.,196		0 g.,431	
Saccharose et polyholoside...		5 g.,720	1 g.,122	4 g.,984	1 g.,262	4 g.,080	0 g.,386	4 g.,459	0 g.,
Amidon.....		4 g.,260		5 g.,490		5 g.,270		6 g.,900	
Matière sèche p. cent.....		22	19	23	19	21	19	24	

Variations dans la composition glucidique des racines et des
(Septembre 19...)

biochimiques.

11 août		5 septemb.	4 octobre	29 novemb.	29 décemb.	9 janvier	6 février	15 mars
Tubercules	Feuilles	Tubercules	Tubercules	Tubercules	Tubercules	Tubercules	Tubercules	Tubercules
+ 0°36'	+ 0°30'	+ 7°35'	+ 8°28'	+ 10°58'	+ 9°30'	+ 9°12'	+ 8°59'	+ 9°23'
+ 0°33'	— 0°42'	+ 2°32'	— 1°34'	+ 0°40'	— 1°	— 1°22'	— 1°39'	— 1°10'
+ 0°41'		+ 2°08'	— 2°07'	+ 0°15'	— 1°26'	— 1°40'	— 1°56'	— 1°25'
+ 0°06'		+ 0°10'	— 2°35'	— 1°32'	— 2°8'	— 2°4'	— 2°12'	— 1°59'
0 g., 544	0 g., 317	0 g., 793	0 g., 374	0 g., 702	0 g., 417	0 g., 350	0 g., 283	0 g., 341
0 g., 279	1 g., 225	4 g., 338	6 g., 664	7 g., 087	7 g., 150	6 g., 832	6 g., 570	6 g., 760
0 g., 357		4 g., 447	6 g., 805	7 g., 150	7 g., 245	6 g., 965	6 g., 635	6 g., 828
0 g., 656		4 g., 949	6 g., 941	7 g., 625	7 g., 427	7 g., 057	6 g., 699	6 g., 948
72'		5°3'	10°2'	10°18'	10°30'	10°34'	10°38'	10°33'
0 g., 735	0 g., 908	3 g., 514	6 g., 290	6 g., 385	6 g., 733	6 g., 542	6 g., 287	6 g., 419
757		701	626	619	641	619	591	608
		24'	33'	25'	26'	18'	17'	15'
0 g., 078		0 g., 109	0 g., 141	0 g., 063	0 g., 095	0 g., 073	0 g., 065	0 g., 068
		272	256	151	219	243	232	272
		1°58'	28'	1°47'	42'	24,	16'	34'
0 g., 299		0 g., 502	0 g., 136	0 g., 475	0 g., 182	0 g., 092	0 g., 064	0 g., 120
		255	292	265	260	230	241	212
0 g., 376	0 g., 317	0 g., 496	0 g., 302	0 g., 422	0 g., 320	0 g., 303	0 g., 251	0 g., 278
0 g., 315		0 g., 557	0 g., 134	0 g., 525	0 g., 182	0 g., 090	0 g., 060	0 g., 118
0 g., 735	0 g., 908	3 g., 514	6 g., 290	6 g., 385	6 g., 733	6 g., 542	6 g., 287	6 g., 419
0 g., 724		10 g., 428	5 g., 640	6 g., 100	5 g., 780	3 g., 240	2 g., 640	3 g., 620
23		40	25	32	24	20	19	22

de la gesse tubéreuse au cours de la végétation annuelle.

(28).

La proportion de maltose suit exactement les mêmes oscillations, avec un maximum en septembre (0,55 p. 100), et un minimum en février (0,06 p. 100).

Par contre, le saccharose (associé au polyholoside), dont la plus faible teneur est en septembre (3,5 p. 100), s'élève très rapidement ; il garde, durant l'hiver, un taux moyen, marqué toutefois d'un léger maximum en décembre (6,73 p. 100). Les proportions de ce sucre se maintiennent ensuite, pendant toute la vie souterraine, jusqu'en mars (6,41 p. 100).

Avec la seconde période, qui correspond à l'activité végétative aérienne, la quantité d'amidon se relève graduellement ; puis, après avoir présenté une légère diminution en juin, elle atteint sensiblement son maximum en août (9,72 p. 100).

Les variations du maltose sont comparables à celles des matières amylacées, sauf durant la phase de fructification, où l'on observe une légère diminution.

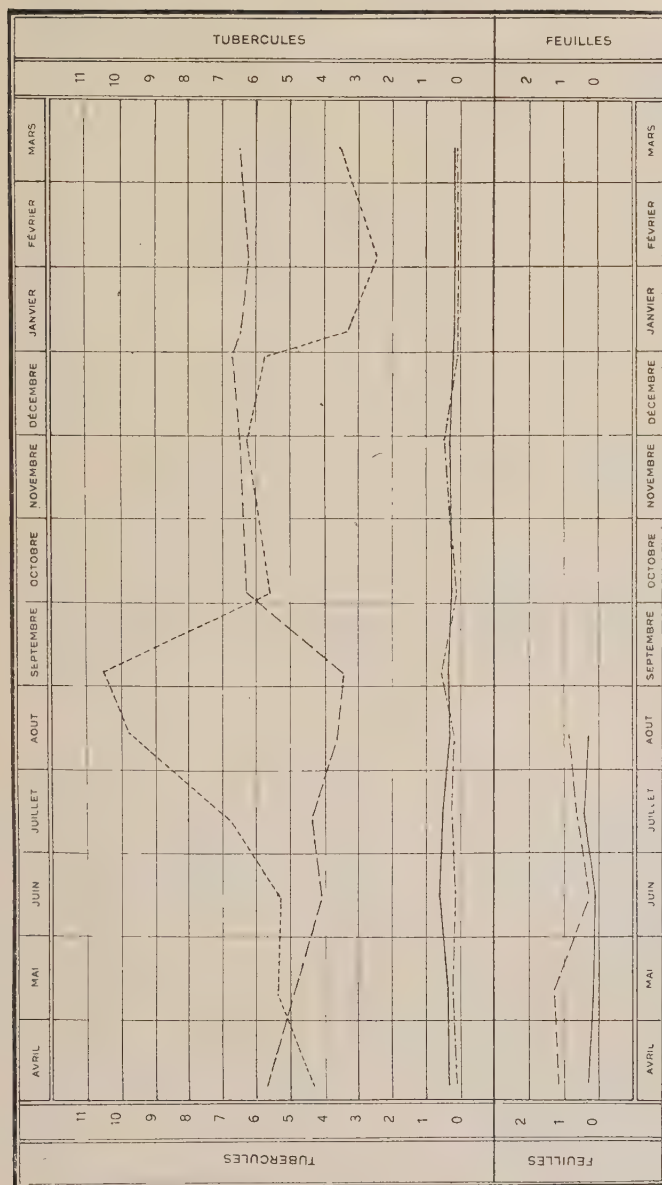
Quant au saccharose, il subit une décroissance, faible mais continue, pendant toute la période de l'assimilation chlorophyllienne.

En résumé : 1° Les résultats obtenus confirment les données déjà acquises, sur les relations de l'amidon et du saccharose dans les organes de réserve des végétaux. Le saccharose, formé aux dépens de l'amidon, pendant la période de vie souterraine, tend à remplacer celui-ci, comme matière de réserve plus facilement assimilable. Il ne semble pas provenir du sucre réducteur, celui-ci restant, à ce moment, à son taux le plus bas.

Au cours de la période de végétation aérienne, le saccharose est employé d'une façon continue, tandis que les matières amylacées, élaborées par les feuilles, s'accumulent d'une façon ininterrompue dans les tubercules.

2° La persistance et les variations du maltose dans les parties souterraines de la gesse tubéreuse, montrent que ce sucre, qui constitue, chez le *Mercurialis peren-*

GRAPHIQUE I.
COURBES GLUCIDIQUES DU *Lathyrus tuberosus* L. (tubercules et feuilles).



Oses
Maltose, ...
Sucre réducteur formé par l'invertine, ...
(Saccharose et polyholoside)
Amidon, ...

nis L. (P. GILLOT [220]), un véritable principe de réserve, semble se comporter, dans les tubercules de *Lathyrus tuberosus* L., comme un glucide permanent, à variations peu conséquentes. Sa présence à l'état libre, dans la gesse tubéreuse, indique que le maltose n'est pas aussi rare qu'on le croyait, il y a quelques années. Il est certain que, grâce à la nouvelle méthode fermentaire, on le trouvera bientôt dans d'autres espèces végétales.

Pour donner à cet exposé une forme plus concrète, nous avons établi un tableau général, accompagné d'un graphique, dont les courbes indiquent les proportions des oses, du maltose, du saccharose et de l'amidon, aux diverses périodes du cycle évolutif. Il est ainsi beaucoup plus facile de saisir les rapports qui peuvent exister entre les proportions des différents glucides et de suivre leurs variations annuelles (Voir p. 151).

Nous avons dressé deux axes de coordonnées ; les grammes ont été portés en ordonnées et les mois en abscisses, d'avril à mars.

Nous avons représenté, en trait plein, la variation des oses, en petits traits, celle du saccharose, en petits traits points, celle du maltose et en points, celle de l'amidon.

*
**

Il ressort de l'étude de la gesse tubéreuse, que le contingent glucidique de ses parties souterraines est surtout constitué par du *glucose*, du *saccharose*, du *maltose*, un *polyholoside* encore inconnu et d'abondantes *réserves amylières*.

Ces différents principes sont accompagnés d'un certain nombre de ferments hydratants, parmi lesquels on peut citer : *sucrase*, *glucosidase* β , *maltase* et *amylase*.

En dehors de ces produits, les tubercules renferment également de l'*asparagine*, une *base azotée* et une *pectine*.

Les résultats de nos essais biochimiques diffèrent avec les divers organes étudiés :

a) *Dans les parties aériennes*, on constate un maximum de sucre réducteur initial, à l'époque de la floraison et un appauvrissement de ces oses, au moment de la maturation des graines.

b) *Dans les organes souterrains*, où l'on rencontre de nombreux glucides, les variations de ces principes sont beaucoup plus considérables.

1° Les oscillations de l'amidon et du saccharose permettent de vérifier les données, déjà acquises, sur les relations de ces deux corps, dans les organes de réserve des végétaux.

2° Le maltose persiste durant tout le cycle végétatif et ses variations correspondent sensiblement à celles des matières amylacées.

Enfin, les *graines*, qui ne renferment pour ainsi dire pas de sucre réducteur, contiennent une forte proportion d'un holoside hydrolysable, à grosse molécule : le *stachyose*. Ce fait met en relief la fonction de réserve qu'elles sont appelées à remplir.

CHAPITRE II.

Gesse sauvage (*Lathyrus silvestris* L.).

DESCRIPTION.

La gesse sauvage est une plante grimpante, de 60 cm. à 1 m. 50 de hauteur, à tige largement ailée dans sa longueur, se perpétuant par des bourgeons nés sur la tige souterraine.

On la trouve dans les haies, au bord des bois, dans les taillis, où elle croît parfois en masse. Les fleurs sont inodores, *de teinte rose, veinées, plus ou moins mêlées de vert et de pourpre*. Elles s'épanouissent depuis le mois de juin jusqu'au mois d'août. Cette espèce se distingue par la teinte variée de sa corolle, la dimension de ses fleurs qui sont grandes et mesurent *14 à 18 mm. de longueur*, par ses feuilles à pétiole *étroitement ailé* et par ses fruits qui portent sur le dos *3 côtes longitudinales peu saillantes, bordées de très petites dents*. Les fleurs sont disposées en grappes par *4 à 10*, sur des rameaux florifères *plus longs* que la feuille, à l'aisselle de laquelle ils sont placés. Le calice est à dents *inégaux*. Le style est *tordu sur lui-même*. Les fruits sont *aplatés*, glabres et présentent une couleur fauve à la maturité. Chacun d'eux mesure de *50 à 60 mm. de longueur, sur 6 à 7 mm. de largeur*, les graines sont brunes, tachées de noir, munies de très petits tubercules (1).

Certains exemplaires portent quelquefois des feuilles munies d'une foliole terminale au lieu de vrille ; on rejoint ainsi le genre *Orobus* que nous avons étudié sous le terme général de *Lathyrus*.

(1) Voir note p. 100.

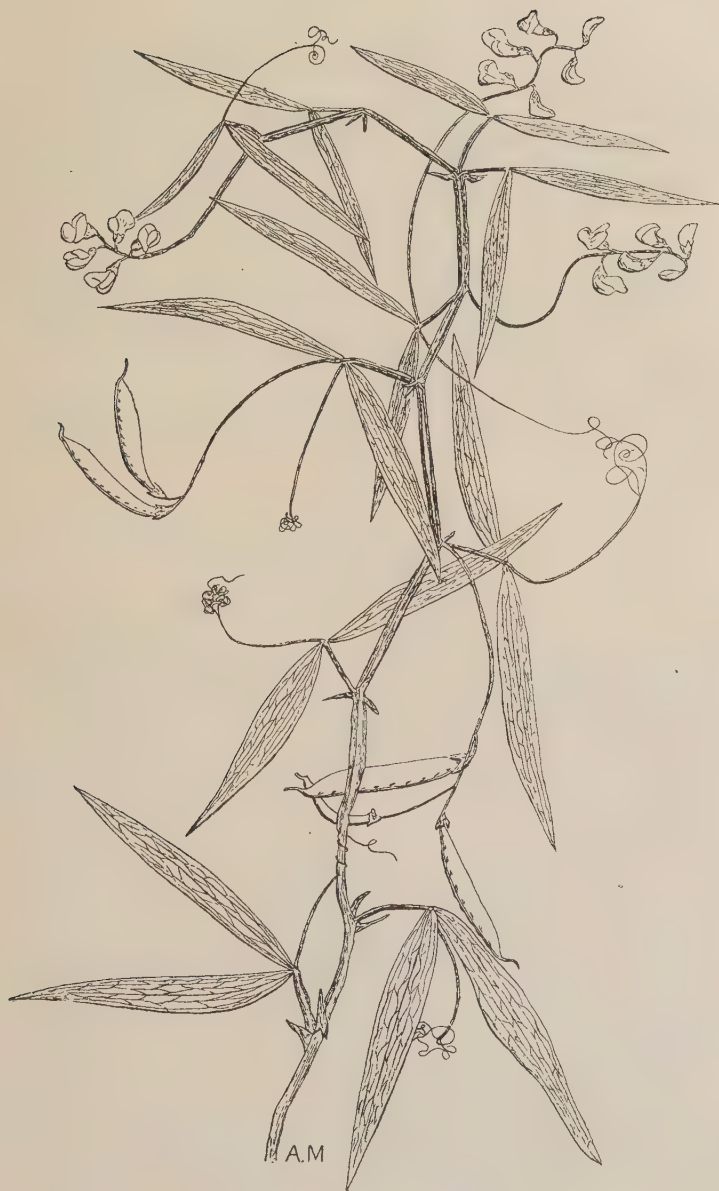


FIGURE 2. — *Lathyrus silvestris* L.

§ 1. — ETUDE BIOCHIMIQUE ET CHIMIQUE.

Il n'existe, du moins à notre connaissance, aucun travail chimique concernant le *Lathyrus silvestris* L. Les résultats intéressants obtenus avec le *Lathyrus tuberosus* L., nous ont incité à étudier identiquement la gesse sauvage. Cette plante vivace, dont la morphologie souterraine diffère nettement de celle de la gesse tubéreuse, a été analysée biochimiquement au cours de sa végétation annuelle. Les résultats fournis par ces essais, nous ont permis d'isoler ose et oside de la racine.

Simultanément, nous avons analysé les graines, dont nous avons extrait un tétraholosite facilement identifiable.

I. — Racine.

1° Essai biochimique.

Ces racines furent récoltées dans la vallée de la Marne, près d'Ay, au mois d'avril, puis stabilisées et traitées selon la technique habituelle. L'essai biochimique est exposé dans le tableau suivant :

Déviati	{	Initiale	+ 6°16'
(l = 2)	{	Après action de l'invertine.....	+ 3°31'
Sucre	{	Initial	0 g.,756
réduct. (p. 100 cm ³)	{	Après action de l'invertine.....	2 g.,722
Par l'inver-	{	Changement de rotation (recul)	2°45'
tine	{	Sucre réducteur formé.....	1 g.,966
	{	Indice de réduction.....	714

L'émulsine et la rhamnodiastase n'ont pas eu d'action.

Interprétation des résultats. — Il convient de remarquer, tout d'abord, la présence d'une quantité considérable de sucre réducteur initial qui, assimilé aux oses, peut paraître extraordinaire au début de la végétation,

Sous l'influence de l'invertine, il s'est fait un retour de 2°45' vers la gauche, avec formation de 1 g.,966 de sucres réducteurs, soit un indice de 714. Ce chiffre est trop élevé pour correspondre à celui du saccharose (603). Nous avons cependant isolé ce dernier sucre très facilement ; il n'est probablement pas seul dans la plante. Contrairement à ce qui se produit chez la gesse tubéreuse, l'émulsine s'est montrée inactive.

Signalons enfin, que le très fort pouvoir dextrogyre (+ 3° 31'), observé après l'action de la sucrase, semble indiquer la présence d'un corps inattaqué par les ferments utilisés. Il ne s'agit donc pas d'un saccharose combiné. De toutes récentes recherches viennent, du reste, de nous prouver sa sensibilité à l'égard de la poudre de pancréas.

2° Identification et extraction du glucose, du saccharose et de l'asparagine.

Extraction du glucose.

La méthode des osazones nous ayant indiqué la présence de cet ose dans les racines, nous avons pu l'isoler facilement, grâce au procédé de BOURQUELOT et BRIDEL [57] dont nous avons donné déjà la technique en détail (1). Le produit obtenu à l'état cristallisé, possédait tous les caractères physiques et chimiques du *glucose*.

Extraction du saccharose et de l'asparagine gauche.

En appliquant, aux liquides extractifs provenant de 2 kg. de racines, le procédé « à la baryte » de Ch. TANRET [361], déjà utilisé précédemment, nous avons obtenu un extrait peu coloré, qui a été épuisé à plusieurs reprises, à l'ébullition, par de l'alcool à 95° puis par de l'alcool à 90°.

Dans ces solutions alcooliques, il s'est produit, en

(1) Voir p. 62,

vingt-quatre heures, une abondante cristallisation. Les cristaux, écrasés au sein même des liqueurs sursaturées, ont provoqué immédiatement un trouble rapide et une précipitation de tout l'oside. Le produit pulvérulent, lavé à l'alcool fort, puis séché à l'air, présentait les caractères suivants :

$$\begin{array}{l} \text{Pouvoir rotatoire : } [\alpha]_D = + 66^{\circ},6 \\ (p = 1,50 \quad \nu = 100 \quad l = 2 \quad \rho = + 2^{\circ}) \end{array}$$

La solution aqueuse ayant servi à la détermination du pouvoir rotatoire, est inactive sur le réactif cupro-potassique. Soumise, pendant quatre jours, à l'action de la sucrase, elle présente une déviation lévogyre de 36' et renferme 1 g.,579 de sucre réducteur, ce qui correspond à un indice enzymolytique de 607.

Nous avons donc bien affaire à du *saccharose*.

Simultanément, durant ces extractions, nous avons isolé des racines de la gesse sauvage de l'*asparagine gauche*. Il nous semble inutile de revenir sur ce corps dont nous avons déjà parlé lors de l'étude des produits retirés de la gesse tubéreuse (1).

Des résultats récents, fondés sur la formation des osazones et sur l'utilisation de la poudre de pancréas, nous ont permis de constater que le glucide dextrogyre non isolé, dont le maximum est en mars-avril, présente de grandes analogies avec le maltose.

II. — Tiges foliées.

Essai biochimique.

Tout en étudiant les racines de la gesse sauvage, nous avons suivi, dans les feuilles, les variations de quelques glucides.

Voici un essai biochimique effectué au mois de mai, époque qui correspond, pour cette plante, au début de la végétation aérienne.

(1) Voir p. 127.

Déviatiôn	{	Initiale.....	± 0°
(l = 2)	{	Après action de l'invertine.....	— 17'
	{	Après action de l'émulsine.....	— 12'
Sucré	{	Initial.....	0 g.,216
réducteur	{	Après action de l'invertine.....	0 g.,486
(p. 100 cm ³)	{	Après action de l'émulsine.....	0 g. 567
Par	{	Changement de rotation (recul).....	17'
l'invertine	{	Sucré réducteur formé.....	0 g.,270
	{	Indice de réduction.....	96½
Par	{	Changement de rotation (retour).....	5'
l'émulsine	{	Sucré réducteur formé.....	0 g.,081
	{	Indice de réduction.....	975

De cette étude succincte, nous ne tirerons que les indications suivantes :

Contrairement à ce qui se passe dans les racines, il existe, dans les tiges foliées, un ou plusieurs osides hydrolysables, non seulement par l'invertine, mais aussi par l'émulsine. Par suite de la faiblesse des changements polarimétriques et des erreurs expérimentales possibles, il convient de ne pas attacher trop d'importance aux indices de réduction obtenus. Il faut enfin remarquer, que l'extraction des sucres tributaires de la sucrase aurait peu de chance de succès, à cette époque de l'année.

III. — Graines.

1° Description.

Les graines de *Lathyrus silvestris* L. sont globuleuses, d'un violet brun assez foncé. Leur surface est couverte de tubercules vermiculés.

La tache hiloïde est brunâtre, linéaire, oblongue, avec une fente longitudinale très nette. Le croissant funiculaire, jaune ciré, possède une marge membraneuse blan-

châtre, qui emboîte à peu près la moitié de la circonférence de la graine.

2^e Essai biochimique.

Afin d'établir une comparaison entre les glucides de réserve pouvant exister dans les graines des différents *Lathyrus*, nous avons étendu les recherches entreprises sur la gesse tubéreuse, à la gesse sauvage.

Voici les résultats de l'essai biochimique classique :

Déviation (l = 2)	{	Initiale	+ 8°48'
		Après action de l'invertine	+ 5° 3'
		Après action de l'émulsine	+ 3°51'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial	0
		Après action de l'invertine	2 g.,258
		Après action de l'émulsine	2 g.,433
Par l'invertine	{	Changement de déviation (recul)	3°45'
		Sucre réducteur formé	2 g.,258
		Indice de réduction	602
Par l'émulsine	{	Changement de déviation (recul)	1°12'
		Sucre réducteur formé	0 g.,175
		Indice de réduction	145

Remarquons, en passant, l'absence de sucre réducteur initial. C'est d'ailleurs un fait assez fréquent dans les graines. Nous aurons encore l'occasion de le signaler à propos des graines de *Lathyrus Aphaca* L.

L'invertine a provoqué un recul de la déviation initiale qui atteint 3° 45' et une formation simultanée de 2 g.,258 de matières réductrices, ce qui donne un indice de 602. On serait tenté de conclure à la présence de saccharose (indice 603), mais la rotation toujours fortement dextrogyre, laisse supposer l'existence d'un oside incomplètement hydrolysable par la sucrase et tributaire de l'action de l'émulsine. Ce polyholoside, qui pourrait être d'ailleurs accompagné de saccharose, masque la présence possible des hétérosides.

3° Extraction et identification du polyholoside. Stachyose.

Nous avons utilisé, pour cette extraction, les trois méthodes indiquées par R. SIBASSIÉ [351] dans ses recherches sur les graines de Légumineuses.

1° La méthode d'extraction directe, légèrement modifiée.

2° La méthode d'extraction « à la strontiane bouillante » de G. TANRET.

3° La méthode d'extraction « à la baryte » de Ch. TANRET.

En fait, c'est surtout le troisième procédé qui nous a donné les meilleurs résultats. Voici le mode opératoire que nous avons suivi, en partant de 750 g. de graines de *Lathyrus silvestris* L. :

Les graines sont préalablement broyées au moulin à café et réduites en poudre. L'extraction s'effectue par trois épuisements successifs à l'alcool à 60° bouillant. Après décantation et séparation du marc, les liqueurs alcooliques sont réunies, puis distillées sous pression réduite jusqu'à consistance sirupeuse pour éliminer l'alcool. La colature est alors reprise par 750 cm³ d'eau distillée et la solution déféquée à l'extrait de Saturne. On enlève l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré, mais il convient de faire remarquer, à ce propos, qu'il est bien plus pratique de précipiter le métal par l'acide sulfurique dilué, quitte à neutraliser au besoin, l'acidité en excès par du carbonate de calcium. Après élimination de l'hydrogène sulfuré et de l'acide acétique, la solution est concentrée dans le vide à basse température. L'extrait ainsi obtenu, a servi pour les différentes extractions.

1° Une première tentative d'isolement des sucres sur cet extrait purifié (et non sur l'extrait alcoolique non

déféqué provenant directement des plantes) ne nous a pas donné de résultats satisfaisants :

Nous avons traité le résidu sirupeux, à plusieurs reprises et à l'ébullition, par de l'alcool titrant depuis 60° jusqu'à 95°, en diminuant chaque fois les proportions de solvant. Après refroidissement et repos de vingt-quatre heures, les solutions alcooliques ont été filtrées, puis abandonnées à elles-mêmes. Durant quatorze mois, nous n'avons observé aucune cristallisation, mais seulement la formation lente de faibles dépôts colorés.

Finalement, toutes ces solutions alcooliques ont été réunies et distillées dans le vide presque à siccité, ce qui nous a donné 38 g. d'extrait.

2° Une deuxième tentative d'isolement a été effectuée par la méthode « à la baryte » de Ch. TANRET :

Les 38 g. d'extrait furent repris par une quantité d'eau distillée, suffisante pour obtenir une solution concentrée au 1/6 environ, que l'on satura à froid, au mortier, par de l'hydroxyde de baryum cristallisé. Après filtration, le liquide, légèrement coloré en jaune, fut soumis à toute une série de précipitations fractionnées par l'alcool fort. Par ce procédé, les glucides à pouvoir rotatoire élevé passent dans les premiers précipités barytiques, tandis que les sucres à pouvoir rotatoire inférieur s'accumulent dans les derniers précipités et les eaux mères. Les différents produits obtenus furent recueillis sur des entonnoirs de BÜCHNER, essorés, lavés par de l'alcool à 95°, mis en suspension dans de l'eau distillée et décomposés par l'acide sulfurique dilué. Après cette opération, il est nécessaire de saturer immédiatement l'acidité en excès par du carbonate de calcium et il faut porter la liqueur filtrée à l'ébullition, pour éliminer, par décomposition, les sels alcalino-terreux solubles. Le filtrat représente la solution aqueuse des sucres.

En suivant ce mode opératoire, nous avons obtenu toute une série de produits, dont le pouvoir rotatoire spécifique s'élevait de + 20° à + 102°.

En concentrant les liquides clarifiés et en traitant successivement les dépôts sirupeux formés, par des alcools de différents titres bouillants, nous espérons extraire les sucres à l'état cristallisé. Ce procédé n'a, malheureusement, pas réussi.

Ne pouvant obtenir de cette manière, les glucides sous forme cristalline, nous avons réuni les épuisements alcooliques et nous avons tenté pour chacun d'eux, un nouvel isolement par combinaison alcalino-terreuse. Les pouvoirs rotatoires spécifiques des fractionnements du début ont été élevés ainsi jusque 104° et même 106°. Dans l'espoir de parvenir à un résultat plus précis, nous avons essayé de traiter les sucres par l'hydroxyde de strontium, mais nous n'avons obtenu aucune combinaison. Ce fait est resté pour nous, jusqu'à présent, inexpliqué.

Toutes ces manipulations ayant entraîné des pertes importantes de matières sucrées, nous avons eu recours, pour remédier à cet inconvénient, aux précipitations fractionnées par l'alcool seul, puis par l'hydroxyde de baryum. Ces purifications successives, nous ont permis finalement d'isoler quelques cristaux d'un sucre de pouvoir rotatoire élevé :

$$[\alpha]_D = + 134^\circ$$

Les propriétés que nous avons pu déterminer sont voisines de celles du *stachyose*, déjà extrait des graines de la gesse tubéreuse.

§ II. — VARIATIONS GLUCIDIQUES DANS LES RACINES ET LES TIGES FOLIÉES DU *LATHYRUS SILVESTRIS* L. AU COURS DE LA VÉGÉTATION ANNUELLE.

1° Biologie de la plante.

Avant d'interpréter les variations glucidiques du *Lathyrus silvestris* L., il convient de donner quelques indications sur la biologie de cette plante.

Voici, brièvement résumées, les remarques que nous avons pu faire sur son développement :

Lorsqu'on suit attentivement les différentes phases de croissance de la gesse sauvage, en partant de la graine, on constate avec IRMISCH [280], que la jeune plante passe l'hiver grâce aux bourgeons qu'elle possède à l'aisselle des cotylédons et des feuilles inférieures souterraines. Lorsque ces bourgeons ont eu le temps de se développer durant la première végétation, le *Lathyrus* persiste par des bourgeons situés à l'aisselle des feuilles inférieures des tiges. C'est ensuite dans la portion axile souterraine des tiges, que naissent, même sur les pieds âgés, les nouvelles tiges sans racines, dont la partie cachée en terre porte encore des feuilles écaillées à bourgeons axillaires permanents.

La racine se développe en un long pivot lignescent, peu rameux, qui nourrit la plante pendant toute sa vie. Elle peut être parfois excessivement forte et longue, et s'enfonce dans le sol verticalement. Nous en avons récolté plusieurs exemplaires, dont l'un ne mesurait pas moins de 1 m. 30, avec un diamètre de 5 cm. au niveau du collet et de 4 cm. à la partie terminale coupée.

Ces observations nous montrent que la gesse tubéreuse et la gesse sauvage, quoique toutes deux vivaces, diffèrent sensiblement par leurs organes souterrains.

2° Variations annuelles de quelques glucides dans le *Lathyrus silvestris* L.

Nos connaissances sur la composition glucidique de la gesse sauvage étant encore incomplètes, nous avons résumé succinctement, en deux tableaux d'ensemble, les essais biochimiques que nous avons eu l'occasion d'effectuer mensuellement, sur les différentes parties de la plante, au cours de la végétation annuelle (Voir p. 165 et 170).

Afin que les résultats obtenus soient comparables, les échantillons ont été prélevés dans un même lieu, situé

près d'Ay (Marne). Il manque malheureusement, pour les parties souterraines, les chiffres correspondants aux mois de novembre et de janvier, au cours desquels il nous a été impossible d'effectuer des récoltes.

Pour exposer plus clairement les différentes modifications survenues chez la gesse sauvage, nous avons adjoint aux tableaux, un graphique donnant l'allure générale des variations glucidiques dans les racines et les tiges feuillées. Les résultats sont rapportés aux plantes fraîches ; ils partent du mois de mai, qui a marqué, pour l'année considérée, la reprise de la végétation active du *Lathyrus sylvestris* L. (Voir p. 168).

a) Racines.

Variations des oses (sucres réducteurs initiaux).

Le tableau V concerne les organes souterrains de la plante.

Les sucres réducteurs initiaux, dont la teneur était à son minimum (0 g.,215) en décembre, augmentent rapidement jusqu'au mois d'avril, en passant par un maximum de 0 g.,828 en mars.

La reprise de la végétation en avril et mai, provoque un affaiblissement très rapide de ces glucides, dont la teneur s'abaisse à 0 g.,272 en juin, lors de la floraison de la gesse.

Au moment de la fructification, en juillet, la proportion des sucres réducteurs s'accroît de nouveau ; cette progression est suivie d'une légère régression provoquée par la sécheresse du mois d'août.

La reprise de la végétation en septembre, entraîne une nouvelle augmentation des oses, et l'on arrive au maximum annuel (0 g.,855). Enfin, avec l'automne, la plante s'achemine vers la période de repos ; celle-ci se traduit par une diminution des matières réductrices.

Examinons si ces variations sont en rapport avec les quantités de sucre réducteur fournies par l'invertine et avec les modifications de la déviation polarimétrique.

Variation des sucres réducteurs fournis par l'invertine.

Il est facile de se rendre compte, que l'indice de réduction, à peu près constant, oscille autour de l'indice théorique du saccharose (603). La courbe présente un maximum au mois de décembre ; ce fait nous rappelle les variations de la gesse tubéreuse. Cette époque marquant le début de la vie souterraine active, se traduit par la formation de bourgeons et l'utilisation lente des sucres hydrolysables par l'invertine. On note, par suite, la décroissance graduelle de la quantité de saccharose jusqu'au mois de juillet où elle atteint un minimum de 0 g.,913. La floraison terminée, la proportion d'osides hydrolysables ne cesse d'augmenter régulièrement. Elle atteint son maximum en décembre (4 g.229) avec un affaiblissement momentané en août et septembre, lors de la reprise de végétation dont nous avons déjà parlé..

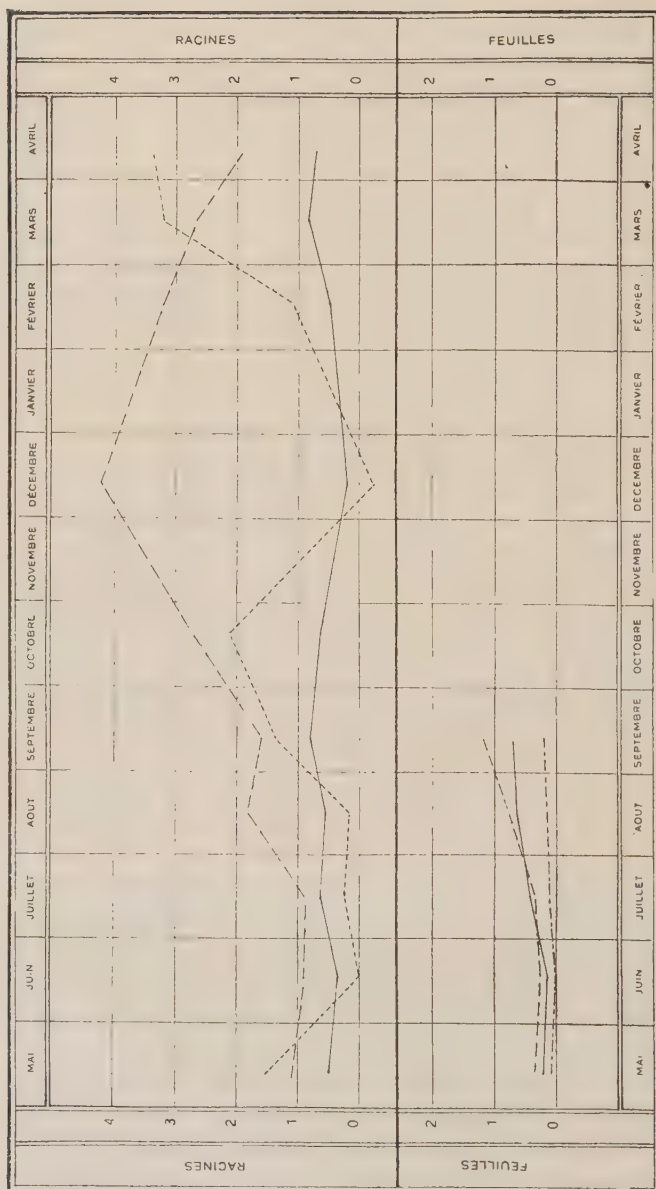
En examinant les courbes glucidiques, on constate que les oses initiaux et le saccharose suivent les mêmes fluctuations au mois de mars et au mois de juillet, c'est-à-dire pendant la période de végétation aérienne. Par contre, du mois de septembre au mois de mars, durant la vie uniquement souterraine de la plante, ces glucides semblent subir des variations opposées.

Variation de la déviation polarimétrique après action de l'invertine.

L'essai biochimique nous a montré l'existence d'un glucide dextrogyre non hydrolysé par l'invertine et par l'émulsine. En traçant une courbe, d'après les seules indications de la déviation polarimétrique après action de l'invertine, il est possible de suivre approximativement les variations annuelles de cet oside. Comme on peut s'en rendre compte, cette déviation est toujours dextrogyre, sauf en décembre ; elle atteint son maximum en mars-avril avec une nouvelle montée en octobre.

GRAPHIQUE II.

COURBES GLUCIDIQUES DU *Lathyrus silvestris* L. (racines et feuilles).



Osos.....
 Saccharose (en sucre interverti).....
 Glucide hydrolysable par l'émulsine.....
 Glucide dextrogyre inconnu.....
 (d'après la déviation après invertine)

Il est donc probable que ce principe osidique, non hydrolysable par les ferments employés au cours de ces recherches, est particulièrement abondant en octobre et surtout en mars-avril ; il passe par son minimum en décembre.

On peut supposer qu'il s'agit d'un glucide réducteur, son maximum correspondant à celui du sucre réducteur initial.

La présence, dans la gesse sauvage, d'oses abondants en mars et avril, ne peut guère s'expliquer par l'activité végétative de la plante. Des essais actuellement en cours, nous ont fait soupçonner la présence de maltose ; toutefois, l'unique tentative d'isolement de cet holoside que nous avons effectuée en décembre, avant d'avoir entrepris la série des variations, ne nous a pas permis d'extraire ce glucide à l'état cristallisé. Le moment de la récolte était d'ailleurs fort défavorable, il est facile de se rendre compte, en effet, par l'examen des courbes, que le mois de décembre correspond à la teneur minimum du principe dextrogyre.

b) Tiges foliées.

Variations du sucre réducteur initial et des sucres réducteurs formés par l'invertine et par l'émulsine.

Contrairement à ce que nous avons remarqué pour les racines, les tiges foliées de la gesse sauvage renferment, en très faible quantité, un hétéroside ou un holoside dédoublable par l'émulsine.

Sans rien préjuger de leur nature, nous avons suivi les variations des glucides du mois de mai au mois de septembre, c'est-à-dire durant toute la période d'activité assimilatrice de la plante (Voir *tableau VI*).

D'une façon générale, les oses, les holosides, et les hétérosides évoluent uniformément dans les tiges foliées. Après avoir noté une décroissance de tous ces éléments en mai, on assiste jusqu'à la fin de la végétation aérienne à une progression ininterrompue de tous ces sucres.

TABEAU VI.

Date du traitement Résultats fournis pour 100 g. d'organes frais.		14 mai	20 juin	16 juillet	13 août	10 septembre
Déviation. (l = 2)	{ initiale	0°	0'	— 13'	+ 20'	+ 44'
	{ après invertine...	— 17'	— 14'	— 31'	— 46'	— 50'
	{ après émulsion...	— 12'	— 12'	— 26'	— 39'	— 39'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{ initial	0 g., 216	0 g., 175	0 g., 361	0 g., 625	0 g., 679
	{ après invertine...	0 g., 486	0 g., 429	0 g., 649	1 g., 320	1 g., 857
	{ après émulsion...	0 g., 567	0 g., 459	0 g., 735	1 g., 436	2 g., 051
Par l'invertine	{ recul	17'	14'	18'	1°6'	1°34'
	{ sucre formé	0 g., 270	0 g., 254	0 g., 288	0 g., 695	1 g., 178
	{ Indice	964	1090	960	631	752
Par l'émulsion	{ retour	5'	2'	5'	5'	11'
	{ sucre formé	0 g., 081	0 g., 030	0 g., 086	0 g., 416	0 g., 194
	{ indice	975	900	1036	1000	1060
Matière sèche		41	42	45	23	28

Variations dans la composition glucidique des tiges foliées de la gesse sauvage
au cours de la végétation annuelle.

Il semble possible de tenter l'isolement des holosides, en opérant de préférence sur des organes récoltés en septembre. En ce qui concerne les corps dédoublables par l'émulsine, leur proportion paraît bien faible si l'on en juge d'après les retours polarimétriques observés et la quantité de sucre réducteur formé. Il est donc à présumer que l'extraction de ces principes sera particulièrement difficile.



En résumé, nous tirerons de cette étude les conclusions suivantes :

La gesse sauvage, qui est une plante vivace, par sa racine, accumule dans cet organe les glucides qu'elle utilise au printemps. Le *saccharose*, que nous avons isolé à l'état cristallisé, y suit les mêmes oscillations que dans les tubercules de la gesse tubéreuse. La courbe des variations enregistrées est, par contre, beaucoup plus régulière et présente son maximum en décembre.

Les *parties souterraines*, qui ne contiennent pas d'oside hydrolysable par l'émulsine, renferment un principe dextrogyre que nous n'avons pas encore isolé, mais qui pourrait être du maltose, si l'on s'en rapporte aux résultats obtenus avec la poudre de pancréas. Ce glucide subit cependant, des variations différentes de celles du maltose de la gesse tubéreuse. Nous poursuivons son étude actuellement.

Les *tiges foliées*, contrairement aux racines, élaborent non seulement des osides dédoublables par l'invertine, mais aussi une petite quantité de composés hydrolysables par l'émulsine.

Les *graines*, dépourvues totalement de matières réductrices, renferment une forte proportion d'un tétraholosite : le *stachyose*, que nous avons pu isoler à l'état cristallisé.

CHAPITRE III.

Essais biochimiques de quelques espèces du genre *Lathyrus*.

Au cours de ce travail d'ensemble, nous avons eu l'occasion d'appliquer les procédés biochimiques de BOURQUELOT à sept espèces du genre *Lathyrus*. Ces résultats n'apportent évidemment qu'une faible contribution à l'étude chimique de ces plantes ; mais il ne faut voir dans ces essais que le point de départ de travaux plus importants.

Nous avons suffisamment décrit les détails de la méthode biochimique pour ne pas y revenir. Nous nous contenterons donc de rappeler, que les solutions extractives soumises à l'action de l'invertine et de l'émulsine, ont été préparées de telle sorte que 100 cm³ de ces liquides représentent 100 grammes de plante fraîche et que les sucres réducteurs sont exprimés en glucose.

Pour faciliter les recherches, nous avons réuni à la fin de ce chapitre, dans un tableau récapitulatif, les différents essais concernant les plantes entières que nous avons étudiées.

§ I. — GESSE APHACA (*Lathyrus Aphaca* L.).

DESCRIPTION. — Cette plante annuelle, au port grêle, présente un aspect tout à fait caractéristique en raison de ses feuilles dont le limbe est complètement transformé en vrille. En revanche, les stipules larges, vertes, en forme de fer de hallebarde, avec deux pointes à leur

base, sont très développées. Elles remplacent les folioles avortées et jouent le rôle des feuilles ordinaires. Les fleurs jaunes, striées de noir, se montrent de mai à juillet.

a) *Plante entière.*

ESSAI BIOCHIMIQUE. — L'essai biochimique a été effectué sur 300 grammes de plante entière cueillie, en pleine floraison, le 27 août.

	Déviati (l = 2)	Sucre réduc- teur (en glucose pour 100 cm ³)
Avant l'essai.....	+ 12'	0 g.,203
Après action de l'invertine.....	— 4'	0 g.,436
Après action de l'émulsine	+ 4'	0 g.,579

L'invertine a déterminé un recul vers la gauche de 16' et la formation de 0 g.,233 de sucre réducteur, soit un indice de 873 (1).

Sous l'influence de l'émulsine, il y a eu un retour à droite de 8', avec formation de 0 g.,143 de sucre réducteur, soit un indice de 1072.

Ces résultats sont peu précis, vue la faiblesse des déviations observées. Les erreurs expérimentales ont, par suite, dans le calcul des indices, une importance considérable. S'il est difficile de se faire une opinion d'après ces quelques chiffres, on peut toutefois conclure qu'il n'existe que des traces de glucides, tributaires des diastases employées, dans le *Lathyrus Aphaca* L.

b) *Graines.*

DESCRIPTION. — La graine de gesse *Aphaca* est orbiculaire, presque lenticulaire, assez épaisse, à faces bombées, lisses. Sa couleur varie du jaune parchemin au gris

(1) L'indice de réduction enzymolytique représente le nombre de milligrammes de sucre réducteur formé, dans 100 cm³ de liquide, pour un retour de la déviation de 1°, observé au tube de 2 décimètres.

ardoise assez foncé. Le micropyle est très petit. Le raphé, peu sensible, se traduit par une légère côte. Le hile est ovale, grenu ou chagriné, il apparaît de côté comme une plage déprimée rectiligne dont la longueur est à peu près égale au $1/8$ ou au $1/10$ de la circonférence de la graine.

Ces graines sont dangereuses pour les bestiaux. Très amères, elles renferment, d'après BONNIER [26, p. 70], une substance encore mal étudiée, réputée vénéneuse. Nos recherches personnelles nous ont permis d'y déceler 0 g.,35 p. 100 de matière grasse.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Voici les résultats d'un essai biochimique à l'invertine et à l'émulsine effectué sur ces graines :

Déviatiôn	{	Initiale.....	+ 7°20'
(l = 2)	{	Après action de l'invertine.....	+ 4°24'
	{	Après action de l'émulsine.....	+ 3°18'
Sucre réducteur	{	Initial.....	0
(p. 100 cm ³)	{	Après action de l'invertine.....	1 g.,473
	{	Après action de l'émulsine.....	1 g.,868
Par	{	Changement de rotation (recul).....	2°56'
l'invertine	{	Sucre réducteur formé.....	1 g.,473
	{	Indice de réduction.....	502
Par	{	Changement de rotation (recul).....	1°6'
l'émulsine	{	Sucre réducteur formé.....	0 g.,391
	{	Indice de réduction.....	355

Remarquons tout d'abord que les graines de gesse *Aphaca* ne renferment pas de sucre réducteur initial, c'est un fait assez fréquent que nous avons du reste observé à propos des graines de *Lathyrus silvestris* L.

L'invertine provoque un recul de la déviation initiale vers la gauche de 2°56', avec formation de 1 g.,473 de sucre réducteur, soit un indice de 502.

L'émulsine continue l'hydrolyse des polyholosides, il se produit un nouveau recul de la rotation vers la gauche.

Il est impossible, d'après ces résultats, de conclure à la présence d'un hétéroside dans les graines. Celles-ci renferment, par contre, un holoside dont nous nous proposons de tenter ultérieurement l'extraction. L'indice trouvé (502), semble le rapprocher du stachyose.

§ II. — GESSE DES MARAIS (*Lathyrus palustris* L.).

DESCRIPTION. — La gesse des marais (*Lathyrus palustris* L.) est une plante de 30 à 80 cm. de hauteur. Elle est peu commune et croît, comme son nom l'indique, généralement dans les marais, les endroits tourbeux et les prairies humides. Assez rare dans l'Est, nous l'avons récoltée aux marais de Saint-Gond, où sa présence nous avait été signalée par J. LAURENT [290] et dans les prairies herbeuses bordant l'Aube.

Les fleurs, d'abord purpurines, deviennent d'un bleu terne ; elles s'épanouissent en juillet-août.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Il fut effectué sur la plante entière cueillie en pleine floraison le 1^{er} septembre :

Déviatiôn (1 = 2)	{	Initiale.....	+ 42'
		Après invertine.....	+ 0°
		Après émulsine.....	+ 28'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial	0 g., 270
		Après invertine.....	0 g., 726
		Après émulsine.....	0 g., 962
Par l'invertine	{	Recul	42'
		Sucre formé	0 g., 456
		Indice.....	651
Par l'émulsine	{	Retour	28'
		Sucre formé	0 g., 236
		Indice.....	505

L'examen de ces résultats montre que sous l'action de l'invertine, il s'est fait un changement de rotation vers la gauche de 42' et une augmentation de 0 g., 456 de sucre réducteur : Soit un indice de réduction de 651.

En supposant que le sucre réducteur formé, provienne de l'hydrolyse du saccharose, le calcul montre qu'il serait fourni par 0 g.,433 de sucre de canne. L'intervention de cet oside donnerait un changement optique de 36'. Expérimentalement nous avons trouvé 42' ; BOURQUELOT admettait la possibilité de l'identité des deux sucres chaque fois que la différence ne dépassait pas 6'. Il est donc possible que le glucide hydrolysé par l'invertine soit du saccharose. Nous nous proposons d'ailleurs de contrôler cette indication, dès qu'il nous sera possible de disposer d'une quantité suffisante de gesse des marais. Nous n'avons pas voulu, en effet, détruire une des rares stations existant dans la Marne, et notre prélèvement a dû se limiter à 300 g.

L'action de l'émulsine a permis de déceler, en faible proportion, la présence d'un hétéroside dédoublable par ce ferment.

L'indice de réduction enzymolytique de ce principe est assez voisin de celui de la gesse des prés.

La rhamnodiastase ne nous a donné aucun résultat.

§ III — GESSE DE NISSOLE (*Lathyrus Nissolia* L.).

DESCRIPTION. — La gesse de Nissolle est une plante assez rare dans nos régions. Elle se différencie très nettement des autres gesses par son port de Graminées. Ses feuilles n'ont en effet, ni vrilles, ni folioles et sont réduites à leurs pétioles très aplatis. Au moment de la floraison, en mai, nous avons pu en découvrir, dans la Marne, près d'Ay, une station importante, ce qui nous a permis d'effectuer deux essais biochimiques, l'un en juin, l'autre en octobre.

Les racines de certains pieds présentent des nodosités assez volumineuses que nous n'avons pas rencontrées chez les autres gesses. La composition chimique de cette plante semble avoir été négligée.

ESSAIS BIOCHIMIQUES. — Voici les résultats fournis par les deux essais :

		Juin	Octobre
Déviation (l = 2)	Initiale.....	+ 42'	+ 53'
	Après invertine.....	$\pm$ 0°	+ 18'
	Après émulsine.....	+ 42'	+ 1°2'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	Initial	0 g.,929	0 g.,949
	Après invertine.....	1 g.,666	1 g.,629
	Après émulsine.....	1 g.,925	1 g.,986
Par l'invertine	Recul.....	42'	35'
	Sucre formé	0 g.,737	0 g.,680
	Indice	1052	1165
Par l'émulsine	Retour.....	42'	41'
	Sucre formé.	0 g.,259	0 g.,357
	Indice	370	486

Sous l'influence de l'invertine, on obtient des indices de réduction assez constants (1052 en juin et 1165 en octobre). Ces chiffres, très élevés, peuvent correspondre à ceux d'un oside encore inconnu. Toutefois, les notions nouvelles sur la spécificité de la sucrase, laisseraient également entrevoir l'existence d'un fructoside ou d'un glucide inconnu, tributaire de ce ferment.

Sous l'action de l'émulsine, il s'est produit un retour vers la droite avec formation de sucre réducteur, dans une proportion telle que l'isolement de l'hétéroside semble possible ; nous nous proposons, dès que nous aurons du matériel en quantité suffisante, d'entreprendre cette extraction.

Les essais biochimiques de la plante entière de *Lathyrus Nissolia* L., aboutissent aux conclusions suivantes :

1° La plante renferme une forte proportion d'un principe inconnu hydrolysable par l'invertine.

2° Elle contient un hétéroside en quantité suffisante, semble-t-il, pour tenter son obtention.

3° L'essai à la rhamnodiastase ne nous a donné aucun résultat.

§ IV. — GESSE HÉRISSEE (*Lathyrus hirsutus* L.).

DESCRIPTION. — La gesse hérissée (*Lathyrus hirsutus* L.) est une plante annuelle, plus ou moins velue, de 30 cm. à 1 m. de hauteur, que l'on trouve assez couramment dans les champs et au bord des chemins.

Les fleurs, primitivement d'un violet pâle, puis bleues s'épanouissent de mai à juillet. Elles sont solitaires ou groupées par 2 ou 3, leur style est assez court, aplati en ailes dans sa longueur. Les fruits, un peu renflés, présentent une face dorsale en forme de carène.

Cette plante possède une tige grimpante, étroitement ailée, des racines peu développées.

Elle se caractérise par ses rameaux florifères bien plus longs que la feuille et par ses fruits qui sont couverts de poils, chaque poil étant muni d'un petit renflement tuberculeux à la base. Les pétioles, plus courts que les folioles, se terminent par une vrille, chaque feuille ne porte que deux folioles allongées et aigües.

ESSAIS BIOCHIMIQUES. — Voici les résultats des essais à l'invertine et à l'émulsine effectués, d'une part, sur la plante entière fleurie, et d'autre part, sur la plante en fin de végétation.

1° Plante entière.

		Récolte de juillet	Récolte de septembre
Déviation (l = 2)	Initiale	$\pm 0^{\circ}$	+ 13'
	Après invertine	— 13'	$\pm 0^{\circ}$
	Après émulsine	+ 28'	+ 18'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	Initial	0 g.,325	0 g.,498
	Après invertine	0 g.,868	1 g.
	Après émulsine	1 g.,040	1 g.,238
Par l'invertine	Recul	13'	13'
	Sucre formé	0 g.,543	0 g.,502
	Indice	2513	2324
Par l'émulsine	Retour	41'	18'
	Sucre formé	0 g.,172	0 g.,238
	Indice	257	793

L'examen des résultats enregistrés ci-dessus montre que l'invertine a provoqué l'apparition d'une quantité assez forte de sucre réducteur, en même temps qu'une faible modification de la déviation polarimétrique. Les indices sont par suite très élevés. Nous ferons ici la même remarque que pour la gesse de Nissolle. Les glucides hydrolysés fournissent peut-être des changements optiques de sens opposés. Le retour et le recul s'annulent, ce qui fait monter l'indice. Il est possible, d'autre part, qu'il existe des sucres, encore inconnus, à constante enzymolytique considérable.

Sous l'action de l'émulsine, on note, comme pour la gesse Aphaca, de faibles variations optiques et réductrices ; le retour à droite oscille entre 41' et 18'. La variabilité des constantes laisse supposer que l'on se trouve en présence d'un mélange de principes glucidiques à indice de réduction dissemblable.

2° Graines.

DESCRIPTION. — Elles sont sphériques, assez petites, d'un violet brun, ayant parfois des reflets gris.

Le tégument est couvert, sur toute sa surface, de petites verrues en forme de pain de sucre. Le hile est largement ovale, entouré d'un rebord tégumentaire, portant en son milieu une fente longitudinale. La région hilo-micropylaire se distingue assez nettement par sa couleur bien plus claire du reste du tégument.

Nous avons décelé, dans ces graines, la présence de 0,40 p. 100 de matières grasses.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Résumons, en un tableau, l'essai biochimique effectué sur ces graines :

Déviation	{	Initiale.....	7°53'
(l = 2)	{	Après invertine.....	4°24'
	{	Après émulsine.....	3°24'
Sucre	{	Initial.....	0 g., 102
réducteur	{	Après invertine.....	2 g., 201
(p. 100 cm ³)	{	Après émulsine.....	2 g., 541

Par l'invertine	{	Recul.....	3°29'
		Sucre formé.....	2 g.,099
		Indice.....	602
Par l'émulsine	{	Recul.....	1°
		Sucre formé.....	0 g.,340
		Indice.....	340

Dans cet essai, l'invertine a provoqué un recul de la déviation initiale de 3°29', accompagné d'une augmentation de 2 g.,099 du sucre réducteur. L'indice enzymolytique [602] pourrait faire admettre la présence de saccharose, mais on constate que la déviation finale reste dextrogyre après action de la sucrase, et que, d'autre part, l'émulsine entraîne un nouveau recul de la rotation vers la gauche.

Même en admettant l'existence du sucre de canne, il est vraisemblable que la plante renferme un polyholoside dont nous nous proposons de tenter l'extraction.

L'indice fourni par l'émulsine correspond à celui du manninotriose (386), et il est probable que nous avons affaire, comme chez les gesses précédentes, à du stachyose.

§ V. — GESSE DES PRÉS (*Lathyrus pratensis* L.).

DESCRIPTION. — Cette gesse se trouve communément dans toute la France, dans les prés, les bois, au bord des chemins. C'est une plante vivace très grimpante dont quelques tiges cachées et rameuses portent des bourgeons souterrains perpétuant la plante. Elle donne généralement peu de graines très souvent parasitées.

Les fleurs sont jaunes, à étendard finement strié de violet. La floraison a lieu du mois de mai jusqu'au mois d'août et se prolonge parfois en automne. On reconnaît cette espèce, en dehors de la couleur de ses fleurs, à ses stipules en forme de fer de hallebarde, portant à la base deux lobes aigus, à ses tiges à quatre angles. Les fleurs sont groupées par 3 à 12 sur un rameau florifère bien

plus long que la feuille, à l'aisselle de laquelle il se trouve placé.

Les fruits deviennent noirs à la maturité, chacun mesure de 25 à 30 mm. de longueur, sur 5 à 6 mm. de largeur.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Nous avons effectué plusieurs essais dans le but de rechercher l'hétéroside signalé par VERGELOT [372] dans les tiges feuillées.

Voici les résultats que nous avons obtenus en juillet et en août :

		12 juillet	24 août
Déviation (l = 2)	Initiale	+ 46'	+ 42'
	Après invertine	— 9'	— 4'
	Après émulsine	+ 20'	+ 14'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	Initial	0 g.,614	0 g.,270
	Après invertine	1 g.,462	0 g.,991
	Après émulsine	1 g.,778	1 g.,124
Par l'invertine	Recul	55'	46'
	Sucre formé	0 g.,848	0 g.,721
	Indice	931	940
Par l'émulsine	Retour	29'	18'
	Sucre formé	0 g.,316	0 g.,133
	Indice	654	443

Il ressort de ce tableau et des essais que nous nous proposons de publier ultérieurement, que l'invertine exerce une action très marquée sur un holoside inconnu, dont l'indice a évolué, en six analyses, de 890 à 940.

L'effet de l'émulsine se traduit par l'hydrolyse d'un hétéroside, avec dégagement d'une odeur agréable rappelant celle de la coumarine. Les constantes obtenues, sauf celles du mois d'août qui se rapportent aux données de VERGELOT, sont toutes situées entre 540 et 665. La quantité assez considérable de sucre réducteur formé, nous a incité à identifier l'hétéroside dont nous poursuivons l'extraction actuellement.

La période la plus favorable pour cet isolement correspond à la saison estivale (juin, juillet, août).

§ VI. — GESSE DU PRINTEMPS

(*Lathyrus vernus* Wimmer = *Orobus vernus* L.).

DESCRIPTION. — Cette très jolie plante vivace, hôte des forêts et des bois, se rencontre abondamment en Lorraine. Sa taille varie de 20 à 40 cm. Les fleurs, d'abord d'une couleur rose violacée, puis bleuâtres s'épanouissent d'avril à juin. Fait important pour nos recherches, les folioles ne noircissent pas en se desséchant.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Les affinités de cette plante avec les *Lathyrus niger* Bernh. et *macrorhizus* Wimmer nous ont incité à la soumettre à un essai biochimique.

Voici les résultats obtenus pour la plante entière, récoltée en pleine floraison le 27 avril :

Déviatiou	{	Initiale.....	$\pm$ 0°
(l = 2)	{	Après invertine.....	— 14'
	{	Après émulsine.....	+ 6'
Sucre	{	Initial.....	0 g.,313
réducteur	{	Après invertine.....	0 g.,828
(p. 100 cm ³)	{	Après émulsine.....	1 g.,133
Par	{	Recul.....	14'
l'invertine	{	Sucre formé.....	0 g.,515
	{	Indice.....	2207
Par	{	Retour.....	20'
l'émulsine	{	Sucre formé.....	0 g.,305
	{	Indice.....	915

Sous l'influence de l'invertine, il s'est produit 0 g.,515 de sucre réducteur, en même temps qu'un recul de 14', soit un indice de : 2207.

Ajoutons de suite que les faibles déviations observées, constituent une cause d'erreur ; ce qui diminue la valeur des renseignements fournis par les indices de réduction enzymolytique.

Des essais effectués ultérieurement nous ont donné des constantes dissemblables.

L'émulsine a provoqué un retour de 20' vers la droite avec formation de 0 g.,305 de sucre réducteur, soit un indice de : 915.

Il existe donc, dans la gesse printanière, en particulier au mois d'avril, un hétéroside dédoublable par l'émulsine (1).

§ VII. — GESSE A GROSSES RACINES

(*Lathyrus macrorhizus* Wimmer = *Orobis tuberosus* L.).

DESCRIPTION. — Le *Lathyrus macrorhizus* Wimmer est une plante non grimpante, de 20 à 40 cm. de hauteur, assez commune en France, surtout en lisière des bois.

Contrairement à ce que semble indiquer son nom spécifique, cette gesse possède une tige souterraine renflée en tubercules qui servent à la perpétuer. Lorsque la dessiccation est effectuée à l'air, sans précaution, les feuilles prennent une teinte noire bleuâtre très foncée, tout à fait caractéristique. Les fleurs sont d'un rouge violacé, puis bleuâtres, elles apparaissent depuis le mois d'avril jusqu'au mois de juin.

ESSAI BIOCHIMIQUE. — Lorsque nous avons récolté cette plante, en mai 1928 [225], elle n'avait pas encore été étudiée au point de vue biochimique.

Voici les résultats que nous avons obtenus :

	Déviatiou (1 = 2)	Sucre réducteur (en glucose p. 100)
Avant l'essai.....	+ 20'	0 g.,372
Après l'action de l'invertine.....	± 0°	0 g.,845
Après l'action de l'émulsine.....	+ 20'	1 g.,037

(1) M. C. BÉGUIN nous ayant très amicalement fourni, par l'intermédiaire de M. BRIDEL, un extrait de *Lathyrus vernus*, nous sommes très heureux de lui adresser ici tous nos remerciements pour son aimable obligeance.

L'invertine a donc fait reculer la rotation de 20' vers la gauche et déterminé la formation de 0 g.,473 de sucre réducteur, soit un indice de 1419.

L'émulsine a ramené la rotation vers la droite de 20', avec formation de 0 g.,192 de sucre réducteur, soit un indice de 576.

En 1930, M. BRIDEL et C. CHARAUX [141-142] réussirent à isoler du *Lathyrus macrorhizus* Wimm., un chromogène : l'orobérol et un hétéroside : l'oroboside.

D'après ces auteurs, le glucide accompagnant ces corps serait uniquement du saccharose. De nombreux essais effectués ultérieurement à 1928, nous ont donné en effet, des constantes souvent voisines de 603. Il est, par suite difficile d'expliquer l'origine du chiffre, exceptionnellement élevé, trouvé, dans notre première analyse.

Conclusion.

En résumé, toutes les espèces de *Lathyrus* que nous avons examinées, renferment un ou plusieurs holosides hydrolysables par l'invertine. Dans la plupart des cas, les indices enzymolytiques obtenus ne concordent pas avec l'indice du saccharose ; ils ont une valeur plus élevée. Il y aurait sans doute intérêt à rechercher les fructosides dans certaines de ces Papilionacées.

Quant à l'action de l'émulsine, elle se fait sentir sensiblement sur toutes les gesses, sauf sur la gesse *Aphaca*. Nos recherches ultérieures auront pour but l'extraction de ces hétérosides.

TABEAU VII.
Etude biochimique de sept espèces de *Lathyrus* indigènes.

Nom des plantes	<i>Lathyrus</i> <i>Aphaca</i> L	<i>Lathyrus</i> <i>patustris</i> L	<i>Lathyrus</i> <i>Nissolia</i> L	<i>Lathyrus</i> <i>hirsutus</i> L	<i>Lathyrus</i> <i>pratensis</i> L	<i>Lathyrus</i> <i>vernus</i> Wimm.	<i>Lathyrus</i> <i>macrorhizus</i> W.
Déviation (1 = 2)	{ initiale..... après invertine. après émulsion.	{ 42' 0° 28'	{ 42' 0° 42'	{ 0° 43' 28'	{ 42' 4' 14'	{ 0° 14' 6'	{ 20' 0° 20'
Sucre réducteur (p. 1000 cm ³)	{ initial..... après invertine. après émulsion.	{ 0 g., 203 0 g., 436 0 g., 579	{ 0 g., 929 1 g., 666 1 g., 925	{ 0 g., 325 0 g., 868 1 g., 040	{ 0 g., 270 0 g., 994 1 g., 424	{ 0 g., 313 0 g., 828 1 g., 133	{ 0 g., 372 0 g., 845 1 g., 037
Par l'invertine	{ recul..... sucre formé.... indice.....	{ 46' 0 g., 233 873	{ 42' 0 g., 737 1052	{ 43' 0 g., 543 2513	{ 46' 0 g., 721 940	{ 14' 0 g., 515 2207	{ 20' 0 g., 473 1119
Par l'émulsion	{ retour..... sucre formé.... indice.....	{ 8' 0 g., 143 1072	{ 42' 0 g., 259 370	{ 41' 0 g., 172 257	{ 18' 0 g., 133 443	{ 20' 0 g., 305 915	{ 20' 0 g., 492 576

Nous avons rassemblé, dans le tableau ci-joint les essais biochimiques relatifs aux différentes espèces de *Lathyrus*. Il est ainsi facile d'apprécier rapidement tout l'intérêt que présentent les réserves glucidiques de ces gesses.

CHAPITRE IV.

Gesse noire

(*Lathyrus niger* Bernh = *Orobus niger* L.).

Nos recherches sur la gesse noire nous ont permis de découvrir un hétéroside, inconnu jusqu'alors chez les Légumineuses : l'arbutoside. La plante présentant, par suite, un grand intérêt au point de vue chimique et physiologique, nous l'avons étudiée en détails.

Nous avons suivi également les variations des oses et des osides dans les tiges foliées au cours de la végétation annuelle.

La gesse noire offrant, d'autre part, le curieux phénomène de la mélanogenèse, nous en avons recherché l'origine et nous nous sommes efforcé de trouver simultanément, le moyen d'empêcher la production de cette coloration, par des procédés rapides et simples après la récolte de la plante.

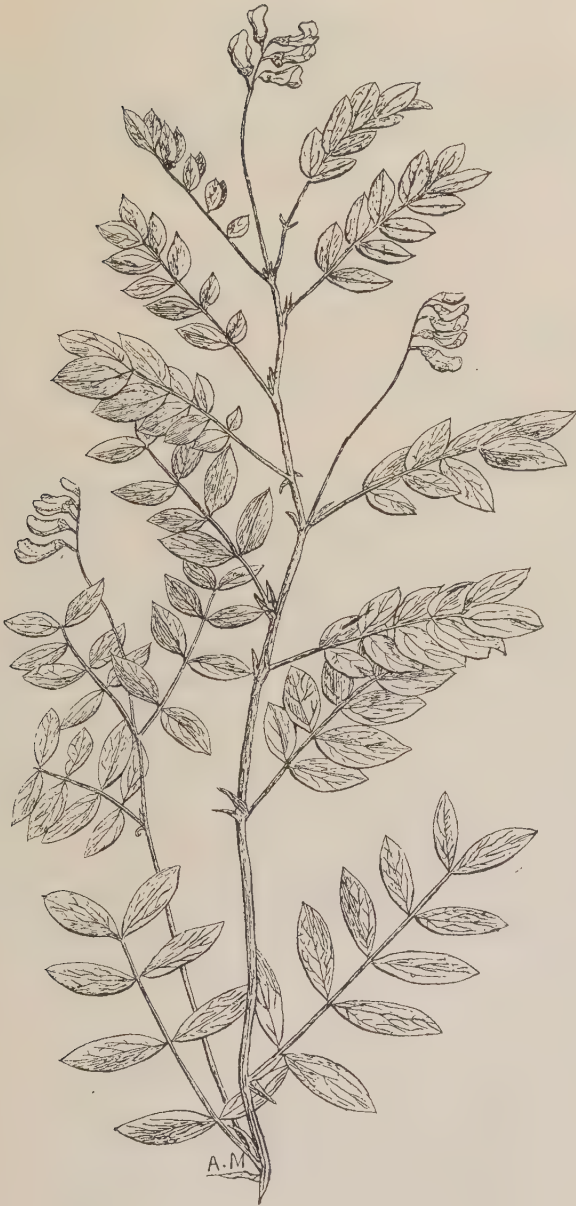


FIGURE 3. — *Lathyrus niger* Bernh.

DESCRIPTION.

Cette gesse, peu commune en France, se trouve ça et là dans les bois. En Meurthe-et-Moselle, où nous avons eu l'occasion de la récolter et de l'étudier, nous n'en connaissons qu'une seule station, située près du village de Lay-St-Christophe.

C'est une plante *vivace*, à tiges anguleuses non grim-pantes, à tiges souterraines courtes, portant des racines adventives épaisses et qui n'a ni longues ramifications, ni tubercules.

Très décorative, elle mesure de 30 à 80 cm. de hauteur et se perpétue par des bourgeons, nés sur la tige souterraine.

On reconnaît cette espèce à ses tiges et à ses pétioles *non ailés* et à ses feuilles qui sont *sans vrille*, terminées simplement par une *petite pointe*. Chaque foliole a des nervures secondaires qui *partent de la nervure principale* de la foliole. Les stipules sont *étroites, aiguës*, en forme d'alène. Les fleurs, d'abord d'un *rouge violacé puis bleuâtres* apparaissent de mai à juillet ; elles sont petites, réunies *par 4 à 8*, en grappes terminant un rameau florifère, qui est *plus long* que la feuille à l'ais-selle de laquelle il se trouve ; chaque fleur mesure de *10 à 13 mm. de longueur*. Le calice est à dents *très iné-gales*, les inférieures ayant à peu près le *tiers* de la longueur du tube du calice. Le style est *barbu* près de son sommet. Les fruits sont allongés, à nervures en réseau, *aplatis sur les côtés*, ils deviennent *noirs* à la maturité ; chacun d'eux mesure de *50 à 55 mm. de longueur* sur *5 à 6 mm. de largeur*.

§ I. — **ETUDE BIOCHIMIQUE ET CHIMIQUE**
du *LATHYRUS NIGER* BERNH.

Nos recherches ont porté sur les tiges foliées, les racines, les fleurs, et les fruits verts.

I. — Tiges foliées.

1^o Essai biochimique.

Les plantes analysées ont été récoltées, le 6 juillet 1930, à Lay-St-Christophe près de Nancy. Elles furent stabilisées, par l'alcool à 80° bouillant, une heure après leur cueillette, hachées, puis traitées par de nouvel alcool et finalement essorées.

Après récupération de l'alcool, par distillation sous pression réduite, nous avons obtenu un extrait qui fut repris par de l'eau toluénée, de manière à obtenir un liquide dont 100 cm³ représentaient 100 g. de plantes fraîches. On a fait agir successivement sur ce liquide, l'invertine puis, sur une partie du résidu, l'émulsine, suivant la méthode biochimique de BOURQUELOT et, sur l'autre partie, la rhamnodiastase, suivant la technique de M. BRIDEL et C. CHARAUX.

Pour les examens successifs, les prises d'essai ont été déféquées à l'extrait de Saturne au demi. En ajoutant le cinquième du volume de réactif, on obtenait une défécation complète et les filtrats étaient limpides et incolores.

Les dosages de matières réductrices ont été faits par le procédé de G. BERTRAND.

Dans le tableau suivant, on trouvera les résultats obtenus et ramenés au volume du liquide primitif :

Déviation (<i>l</i> = 2)	{	Initiale	— 1°41'
		Après action de l'invertine...	— 2°10'
		Après action de l'émulsine...	+ 1°
		Après action de la rhamno- diastase.....	— 1°41'

Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial.....	0,271	
		Après action de l'invertine...	0,538	
		Après action de l'émulsine...	2,693	
		Après action de la rhamnodiastase.....	0,923	
Par l'invertine	{	Changement de rotation (recul)	29'	
		Sucre réducteur formé	0,267	
		Indice de réduction.....	552	
				Par la rhamnodiastase
Par l'émulsine	{	Changement de rotation (retour).	3°10'	29'
		Sucre réducteur formé.....	2,155	0,385
		Indice de réduction	680	797

Examinons ces résultats :

Sous l'action de l'invertine, il s'est produit un changement de rotation vers la gauche de 29' et une augmentation de 0 g.,267 de sucre réducteur.

En supposant que ce sucre réducteur soit du sucre interverti formé par hydrolyse, nous voyons qu'il aurait pour origine 0 g.,253 de saccharose.

Le calcul montre que l'intervention de cette quantité de saccharose provoquerait un changement optique de 27'. Or, il a été trouvé expérimentalement 29' ; BOURQUELOT admettait que, pour une différence ne dépassant pas 6', il était possible de considérer les deux sucres comme identiques. D'après ces chiffres, le sucre hydrolysé par l'invertine serait du saccharose.

Sous l'action de l'émulsine, le liquide a pris d'abord une teinte rougeâtre, puis noirâtre. Le changement de rotation vers la droite a été de 3°10' et il s'est formé 1 g. 973 de matières réductrices exprimées en glucose pour 100 cm³.

Les tiges foliées du *Lathyrus niger* Bernh renferment donc un hétéroside hydrolysable par l'émulsine et par la rhamnodiastase. Ce principe semble exister en quantités importantes, étant donnés les changements observés. L'indice de réduction enzymolytique (680), est situé entre celui du syringoside (570) et celui de l'arbutoside (700).

Nous avons remarqué d'autre part, après action de l'émulsine, lors du dosage des sucres réducteurs, que l'addition de liqueur alcaline de BERTRAND à la solution déféquée, provoquait l'apparition d'une teinte jaune passant à l'orangé, puis rouge vineux. La production de cette même coloration foncée sous l'action du complexe fermentaire des amandes, nous a fait soupçonner la présence de l'arbutoside, que nous avons ensuite extrait facilement.

S'il en est bien ainsi, en nous appuyant sur les expériences de A. FICHTENHOLZ [209] et sur le calcul qui montre qu'un retour de 1° correspond à l'hydrolyse de 0 g.,500 d'arbutoside dans 100 cm³, nous voyons que 100 g. de feuilles fraîches de *Lathyrus niger* Bernh. essayées, renferment 1 g.,583 d'arbutoside.

En ce qui concerne l'indice de réduction enzymolytique observé il n'était possible d'expliquer la faiblesse du chiffre trouvé que :

1° Par la présence de méthylarbutoside, dont l'indice 326 est beaucoup plus faible ; nous en avons tenté vainement la recherche. Le dosage ultérieur des groupes méthoxy a d'ailleurs été négatif.

2° Par les différences de concentration des solutions essayées en hydroquinol ; concentration qui influe sur le pouvoir réducteur.

3° Par la quantité d'hydroquinol oxydé et par suite disparu au cours de l'essai qui a dépassé huit jours.

2° Extraction de l'hétéroside.

Trois kg. de plantes fraîches et fleuries, récoltées le 13 juillet 1930, ont été stabilisées à l'alcool à 80° à l'ébullition, de façon à détruire tous les ferments.

Après refroidissement, les plantes ont été pressées, broyées et épuisées, d'abord dans le même alcool, puis, après décantation, par de l'alcool neuf.

On a réuni les solutions alcooliques, et, après filtration, on a récupéré le solvant par distillation à l'alambic.

Le résidu aqueux, filtré rapidement pour éliminer la majeure partie de la chlorophylle, a été déféqué complètement par l'extrait de Saturne. Les solutions réunies ont été traitées ensuite par l'acide sulfhydrique pour éliminer l'excès de plomb.

Après filtration, on les a distillées en sirop épais, sous pression réduite, sans dépasser 50° pour éviter toute hydrolyse par l'acide acétique. Cet acide a été éliminé lui-même par de nombreux lavages de l'extrait au moyen d'éther.

C'est cet extrait qui a été repris par l'éther acétique hydraté bouillant, à dix reprises différentes, en employant dans chaque épuisement 500 cm^3 de solvant. Malheureusement, l'hétéroside y était fort peu soluble (1 partie pour 1000 parties d'éther acétique anhydre environ) et n'avait aucune tendance à cristalliser. Ce n'est que par distillation de l'éther acétique, que nous avons obtenu le produit sous forme d'un résidu blanc, assez abondant, mal cristallisé.

L'extrait ainsi épuisé, fut repris par de l'eau distillée, de manière à obtenir une solution sirupeuse qui a été traitée par de l'éther acétique, dans l'appareil à perforation pour solvants légers de FAYOLLE et LORMAND. Il s'est déposé assez rapidement, au sein de l'éther acétique, des croûtes blanchâtres cristallines, de nature hétérosidique, que nous avons étudiées ultérieurement.

Le glucide, extrait à l'ébullition, a été purifié d'abord par trois cristallisations successives dans l'éther acétique bouillant. Finalement, après lavage du produit cristallisé par l'éther anhydre où il est presque insoluble, on l'a fait recristalliser dans de l'éther acétique additionné de 2 p. 100 d'eau (300 cm^3 pour 5 g. de produit). On a obtenu ainsi environ 15 g. d'hétéroside pur.

L'hétéroside étant très peu soluble dans l'éther acétique froid, nous avons été amené à modifier les appareils destinés aux épuisements ultérieurs. Nous avons fait construire par la maison LEUNE, un extracteur très ma-

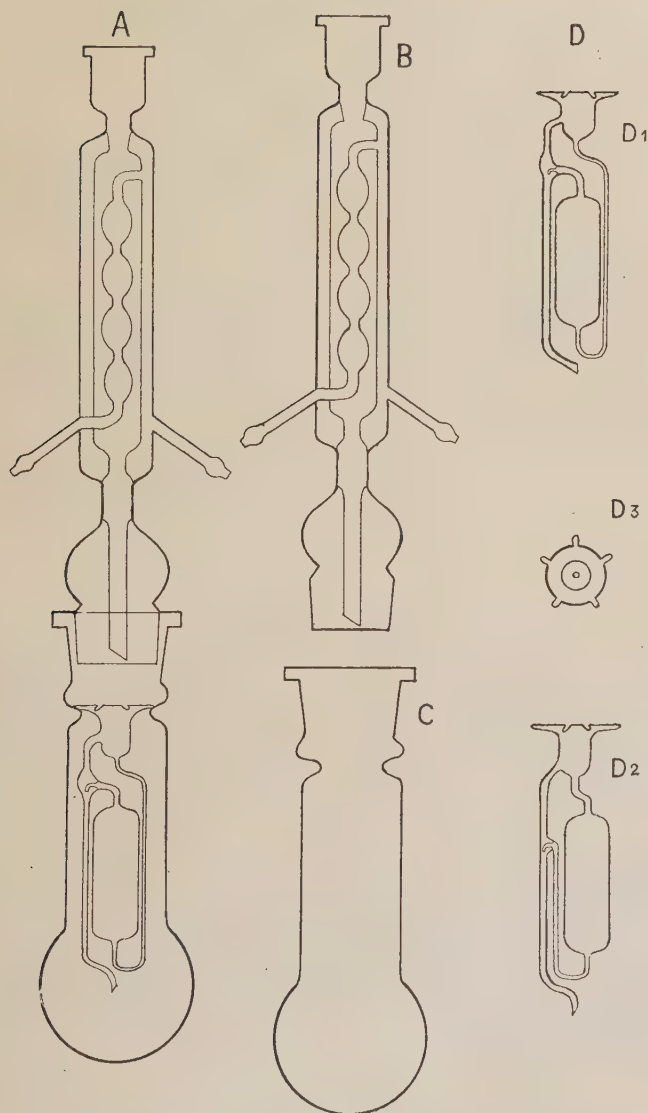


FIGURE 4. — Schéma de l'appareil pour épuisement à chaud. A, Appareil de KUMAGAWA monté avec appareil à perforation D_1 . B, réfrigérant. C, Ballon. D, Appareils réduits de FAYOLLE et LORMAND. D_1 App. pour solvant léger. D_2 App. pour solvant lourd.

niable, dont le schéma est reproduit ci-contre (1). Cet appareil offre les avantages suivants :

1° Il permet d'effectuer l'épuisement à chaud, à la température d'ébullition du liquide.

2° Il évite tous les risques d'incendie, causés par les agitations successives au cours de la méthode habituelle.

3° Il facilite enfin l'utilisation rapide des solvants lourds aussi bien que des solvants légers, avec une réfrigération convenable.

Le lixivateur se compose, comme l'indiquent les figures, d'un extracteur de KUMAGAWA dans lequel le soxhlet a été remplacé par un appareil à perforation de FAYOLLE et LORMAND, de proportions réduites.

Il nous a particulièrement servi dans nos recherches, pour épuiser des quantités d'extrait de l'ordre d'une centaine de grammes. Il convient parfaitement pour des essais.

3° Etude de l'hétéroside.

Propriétés physiques. — Le produit retiré des feuilles fraîches du *Lathyrus niger* Bernh, cristallisé dans l'éther acétique à 2 p. 100 d'eau, se présente sous forme d'aiguilles blanches. Il est hydraté et cristallise avec une molécule d'eau.

A $+ 110^{\circ}$, il perd 6 g.,20 p. 100 de son poids (théorie pour l'arbutoside : 6 g.,16), perte de 0 g.,031 pour 0 g.,500 d'hétéroside.

Il fond au bloc de MAQUENNE à $+ 195^{\circ}$.

C'est un oside lévogyre. Son pouvoir rotatoire a été déterminé en solution aqueuse sur un échantillon hydraté, séché à l'air.

On a trouvé :

$$[\alpha]_D = - 61^{\circ},65$$
$$(p = 0,20 \quad \nu = 20 \quad l = 2 \quad \rho = - 1^{\circ}14')$$

(1) Voir p. 193.

et dans une autre détermination sur un produit également hydraté, toujours séché à l'air :

$$[\alpha]_D = -61^{\circ},45$$
$$(p = 0,50 \quad \rho = 25 \quad l = 2 \quad \rho = -2^{\circ}28').$$

Ce qui donne pour le corps anhydre :

$$= -65^{\circ},76 \text{ et } -65^{\circ},73.$$

En 1908, Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [77] ont trouvé, pour un arbutoside commercial purifié et anhydre, un pouvoir rotatoire de $[\alpha]_D = -65^{\circ},04$.

En 1910, A. FICHTENHOLZ [211], puis H. HÉRISSEY [263] ont donné $[\alpha]_D = -63^{\circ},5$, mais, en 1912, dans l'étude du *Grevillea robusta*, Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ [67] ont indiqué pour l'arbutoside anhydre $[\alpha]_D = -65^{\circ},1$.

Nous avons, dans nos calculs, conservé ce chiffre moyen $[\alpha]_D = -65^{\circ}$ pour l'arbutoside, chiffre concordant avec le pouvoir rotatoire trouvé pour notre hétéroside.

Propriétés chimiques. — Le produit étudié donne les réactions suivantes :

1° Si, à deux ou trois centigrammes d'hétéroside, on ajoute quelques gouttes d'eau, puis une ou deux gouttes de perchlorure de fer officinal au dixième, il se produit une coloration bleue.

2° (Réaction de JUNGMAHN). On fait dissoudre un gramme de phosphomolybdate de sodium dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique concentré additionnés de 20 cm³ d'eau.

En ajoutant six à huit gouttes de ce réactif à une solution de 0 g.,05 d'hétéroside dans 1 cm³,5 d'eau distillée et en versant dans le mélange cinq à six gouttes d'ammoniaque, le liquide prend aussitôt une belle teinte bleu saphir.

3° (Réaction de STRECKER-SCHIFF). On fait agir en milieu alcoolique l'acide nitrique sur l'hétéroside ; il se forme du dinitro-arbutoside qui met par hydrolyse du dinitro-hydroquinol en liberté.

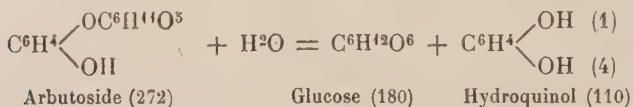
L'addition de lessive de soude au tiers provoque une magnifique teinte violette due à l'action de l'alcali sur le dinitro-hydroquinol.

Ces colorations sont données par l'arbutoside, mais elles n'ont rien de spécifique comme l'ont fait remarquer CLAASSEN [179] et A. FICHTENHOLZ [209], elles sont néanmoins en faveur de l'identité de l'hétéroside du *Lathyrus niger* Bernh. avec l'arbutoside.

Toutes les propriétés de l'hétéroside de la gesse noire concordent exactement avec celles de l'arbutoside pur.

Nous avons du reste complété l'identification par l'hydrolyse sulfurique et le dédoublement fermentaire.

On sait que l'arbutoside est le glucoside β de l'hydroquinol, on sait également que les deux produits d'hydrolyse : glucose et hydroquinol, sont réducteurs.



Il résulte des essais de Em. BOURQUELOT [41] et de A. FICHTENHOLZ [62], que le dosage des produits réducteurs doit être fait en solution suffisamment diluée et sans trop s'écarter d'une teneur déterminée, le pouvoir réducteur de l'hydroquinol augmentant rapidement avec la concentration des solutions. L'indice de réduction enzymolytique (700) de l'arbutoside correspond à des solutions telles que la quantité employée dans le dosage ne renferme pas plus de 8 mg. à 14 mg. d'hydroquinol, c'est-à-dire de 19 mg.,8 à 34 mg.,6 d'hétéroside hydrolysé.

Nous nous sommes toujours efforcé de rester dans les limites de ces conditions expérimentales, afin de pouvoir comparer nos essais à ceux de Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ.

Hydrolyse sulfurique. — A 20 cm³ de solution d'hétéroside à 1 p. 100, on a ajouté un égal volume d'acide sulfurique à 6 p. 100. L'hydrolyse a été faite en tube scellé, au bain-marie bouillant ; le liquide, incolore pri-

nitivement, après une hydrolyse de deux heures, n'a pas changé de teinte. Au contact de l'air, il s'est peu à peu coloré en rose, puis en noir.

La rotation est passée de $-1^{\circ} 14'$ à $+32'$ et il s'est fait 1 g.,252 de produits réducteurs exprimés en glucose pour 100 cm³. L'indice de réduction est donc de 708. L'hydrolyse est totale.

Le dosage a été effectué sur 5 cm³ de la solution d'hydrolyse contenant 25 mg. d'arbutoside hydraté, soit 23 mg.,4 d'arbutoside anhydre. Cette quantité, d'après les tables données par A. FICHTENHOLZ [62] doit fournir, comme produits réducteurs exprimés en glucose : 31 mg.,88. Nous avons trouvé 31 mg.,90.

Cette expérience confirme l'identité de l'hétéroside avec l'arbutoside. Néanmoins, nous avons tenu à extraire les produits d'hydrolyse.

Extraction des produits de l'hydrolyse acide. — Le reste du liquide de l'hydrolyse acide (30 cm³), a été épuisé à quatre reprises par 25 cm³ d'éther. Le produit non glucidique passe dans ce dissolvant. Les solutions éthérées, réunies, évaporées à l'air libre, ont laissé un résidu cristallin, en aiguilles ayant tendance à noircir, du poids de 0 g.,0568. Théoriquement, 0 g.,15 d'arbutoside doivent donner 0 g.,0575 d'hydroquinol. Les chiffres sont assez concordants. Le résidu était d'ailleurs le diphénol supposé, car, ayant pris comparativement le point de fusion avec de l'hydroquinol purifié, les deux échantillons ont fondu : le témoin à $+166^{\circ}$, le corps obtenu à $+165^{\circ}$.

La présence de méthylhydroquinol fondant à $+53^{\circ}$, aurait été marquée par un abaissement notable du point de fusion.

Pour identifier définitivement le produit, nous avons effectué plusieurs réactions caractéristiques. En triturant des particules de carbonate de potassium avec quelques cristaux d'hydroquinol, il se développe une belle coloration bleu pâle, qui devient bientôt azurée, bleu indigo, finalement bleu foncé. Après plusieurs minutes, la sur-

face de la masse montre des reflets métalliques jaune vert, tandis que le mélange, vu par transparence, reste bleu. Notre corps a donné ces réactions colorées.

On n'observe ces phénomènes qu'avec le sel de potassium ; le carbonate de sodium donne une coloration gris mauve, le carbonate d'ammoniaque et le carbonate de lithium n'ont pas d'action sur l'hydroquinol. L'addition d'eau, d'alcool ou d'ammoniaque détruit la coloration ; le mélange se dissout en donnant une liqueur jaune qui devient bientôt brune avec séparation de cristaux noirs. L'éther fait disparaître la teinte bleue, tandis que celle-ci persiste en présence de chloroforme ou de benzène (MELDINEY [300])

Nous avons également utilisé quelques réactions indiquées par DENIGÈS ([200], p. 202).

1 En dissolvant 0 g.,05 de notre produit dans 2 cm³ d'eau et en ajoutant un double volume de réactif au sulfate mercurique de l'auteur, nous avons obtenu une solution à peine colorée en jaune verdâtre.

2° En ajoutant dans un tube à essai, 0 g.,20 du polyphénol à 4 ou 5 cm³ d'alcool, et en faisant couler lentement sur les parois inclinées, 1 cm³ de lessive de soude, de façon à éviter tout mélange, il s'est produit, à la zone de séparation des deux liquides, un anneau coloré en jaune, dont la teinte s'est rapidement diffusée dans l'alcool surnageant.

3° Enfin, en jetant une pincée (0 g.,10 environ) du corps à identifier dans quelques cm³ de réactif sulfurique formolé à 2 p. 100, il s'est produit, par agitation, une coloration jaune brun, puis feuille morte.

Toutes ces réactions positives confirment l'identité de notre produit avec l'*hydroquinol*.

La caractérisation du diphéhol étant obtenue, nous avons poursuivi, sur la solution d'hydrolyse, l'isolement du glucose.

Le liquide acide, épuisé à l'éther, a été neutralisé par du carbonate de calcium, puis évaporé à sec sous pres-

sion réduite. Le résidu, repris à l'ébullition par quelques cm^3 d'alcool absolu, a été filtré après refroidissement ; il s'est produit une cristallisation sur amorce de glucose, mais en si faible quantité, vu le peu d'importance de la prise d'essai, qu'on a pu seulement faire un examen microscopique. Ces cristaux présentaient la forme du glucose.

L'hydrolyse à l'émulsine, opérée sur une quantité plus élevée de produit, nous a permis d'isoler l'hexose et de le caractériser facilement.

Hydrolyse fermentaire. — A 250 cm^3 d'une solution d'hétéroside hydraté, à 2 g. p. 100 cm^3 , on a ajouté 1 g.,50 d'émulsine et on a mis le tout à l'étuve à $+ 30^\circ$ en présence de toluène.

La marche de l'hydrolyse a été suivie par l'examen polarimétrique et par le dosage des produits réducteurs. Les résultats sont les suivants :

	Rotation ($l = 2$)	Sucre réducteur (p. 100 cm^3)
Initial	$- 2^\circ 24'$	0
Après 24 heures	$+ 1^\circ$	2,436
Après 84 heures	$+ 1^\circ$	2,436

En une heure, le liquide, d'abord incolore, a pris une teinte jaune clair passant insensiblement au rose ; en 24 heures, le tout était rouge brunâtre. Une solution d'hydroquinol se colore identiquement par oxydation. La présence d'émulsine, renfermant des traces d'oxydase, accélère cette coloration. Pour l'examen polarimétrique, la défécation, par addition d'extrait de Saturne et de sulfate de sodium, fut rendue nécessaire pour provoquer une légère décoloration et faciliter la lecture de la déviation.

Les chiffres qui sont indiqués, se rapportent au liquide primitif. La rotation est passée de $- 2^\circ 24'$ à $+ 1^\circ$ et il s'est fait 2 g.,436 de produits réducteurs exprimés en glucose, pour 100 cm^3 . L'indice de réduction calculé est de 716. L'hydrolyse est totale en 24 heures.

Du liquide d'hydrolyse, nous avons extrait, d'une part, le principe phénolique qui est identique à l'hydroquinol obtenu par hydrolyse sulfurique, et d'autre part, le sucre réducteur, qui est bien, comme nous l'avions annoncé, du glucose-*d*.

Extraction de l'hydroquinol et du glucose. — Ce qui restait du liquide (200 cm³), l'hydrolyse fermentaire terminée, a été traité de la même manière que le produit d'hydrolyse acide :

Le liquide a été agité avec de l'éther à plusieurs reprises pour dissoudre l'hydroquinol. Par évaporation de ces solutions éthérées, on a obtenu un résidu blanc, cristallisé, pesant 1 g.,51. Ce produit fond nettement au bloc de MAQUENNE à + 166°, comme un échantillon d'hydroquinol purifié, et donne les réactions précitées. Théoriquement, 4 g. d'arbutoside doivent donner 1 g.,53 d'hydroquinol.

D'autre part, le liquide aqueux rougeâtre, après épuisement à l'éther, a été versé dans 500 cm³ d'alcool à 95° bouillant, pour éliminer l'émulsine.

On a filtré après refroidissement et distillé le liquide à sec sous pression réduite. Le résidu a été repris à l'ébullition par 30 cm³ d'alcool absolu, en présence de noir décolorant. Après filtration, le glucide a cristallisé en 48 heures, sur amorce de glucose. On a obtenu des cristaux ayant au microscope la forme caractéristique de ce sucre, et identiques en tous points au produit préparé par hydrolyse acide. Ces cristaux, dès leur dissolution dans l'eau, présentaient un pouvoir rotatoire dextrogyre :

$$[\alpha]_D = + 100^\circ$$

qui a diminué rapidement, puis s'est stabilisé :

$$[\alpha]_D = + 53^\circ,33$$

$$(p = 0,30 \quad \nu = 20 \quad l = 2 \quad \rho = + 3^\circ \longrightarrow + 1^\circ 36').$$

Le dosage du sucre réducteur, effectué sur une solution renfermant 30 mg., correspondait à 29 mg.,68 (exprimé en glucose),

Pour identifier chimiquement le glucose, nous l'avons transformé, par oxydation avec le brome et l'eau, en acide gluconique dont le sel de calcium est caractéristique.

Nous avons trouvé :

$$[\alpha]_D = + 6^{\circ},6.$$

$$(p = 0,75 \quad \varphi = 20 \quad l = 2 \quad \rho = + 0^{\circ},50).$$

$$\text{Pour } (\text{C}^6\text{H}^{11}\text{O}^7)^2\text{Ca} : [\alpha]_D = + 6^{\circ},5.$$

Finalement, pour ne laisser subsister aucun doute, nous avons tenté la formation, à partir du produit obtenu, du méthylglucoside β par synthèse biochimique à l'aide des ases, dans l'alcool méthylique à 70 p. 100.

On connaît, en effet, les propriétés synthétisantes de l'émulsine pour la formation de certains hétérosides bien définis. Avec le glucose, on choisit, de préférence, l'alcool méthylique qui donne du méthylglucoside β , très facile à obtenir à l'état cristallisé, comme l'ont montré Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL [57].

Sans revenir sur une technique déjà indiquée, rap-
pelons brièvement le mode opératoire :

Une certaine quantité de sucre isolé a été dissous dans 50 cm³ d'un alcool méthylique à 70 p. 100.

Après addition d'1 g. p. 100 d'émulsine, le flacon renfermant le mélange a été fixé sur une roue hydraulique tournant très doucement. On sait maintenant que les synthèses biochimiques sont beaucoup plus rapides dans un milieu agité lentement, et dans lequel le ferment est remis sans cesse en contact avec les produits à condenser. Nous avons suivi optiquement les phénomènes de synthèse :

Au départ	+ 3°	} Déviation ($l = 2$)
Le lendemain	+ 2°18'	
Après 7 jours	+ 36'	
Après 13 jours	— 42'	

On peut constater que la stabilisation au point de vue optique s'est effectuée à — 42' après treize jours d'expérience. Or, il résulte des recherches d'E. BOURQUELOT et

de G. VERDON [85] que, dans nos conditions d'expériences, la réaction synthétisante devait s'arrêter, pour le glucose, à un pouvoir rotatoire de $-42'$. Le chiffre expérimental correspondait donc bien au résultat théorique.

Dès l'arrêt de la réaction, le liquide a été filtré pour séparer l'émulsine, puis distillé à sec sous pression réduite. Le tout a été repris par 50 cm^3 d'eau froide. Dans cette solution aqueuse, nous avons ajouté un peu de levure haute, qui ne touche pas au méthylglucoside, mais qui détruit par fermentation le glucose en excès. Après cessation de toute effervescence, le liquide a été filtré de nouveau, amené à siccité sous pression réduite, et traité à l'ébullition par un mélange éthéro-alcoolique (alcool à 95° : 10 cm^3 , éther acétique : 25 cm^3), les épuisements à l'éther acétique pur ou hydraté ne nous ayant pas donné de résultat. Il s'est produit dans ce mélange, par refroidissement, une belle cristallisation. Le produit a été recueilli après 36 heures de repos.

Ces cristaux, convenablement lavés avec la même solution éthéro-alcoolique, puis séchés à l'air libre, pesaient $0\text{ g},55$. La solution mère, additionnée de deux fois son volume d'éther, a laissé déposer, en huit jours, de nouveaux cristaux tabulaires.

Le produit obtenu présentait un pouvoir rotatoire de :

$$[\alpha]_D = -32^\circ,5$$

$$(p = 0,20 \quad v = 10 \quad l = 2 \quad \rho = -1^\circ 18')$$

Son point de fusion, déterminé au bloc de MAQUENNE, est de $+100^\circ$. La saveur est d'abord douceâtre, puis faiblement amère. En solution aqueuse, il n'est pas réducteur.

Le liquide ayant servi à déterminer le pouvoir rotatoire de l'hétéroside, a été additionné d'un volume égal d'acide sulfurique à 6 p. 100, puis chauffé en tube scellé, pendant 2 heures, au bain-marie bouillant. Après refroidissement, la rotation était passée de $-39'$ à $+30'$ ($l = 2$), et il s'était formé $0\text{ g},663$ de glucose pour 100 cm^3 : Soit un indice de réduction de 576.

Le pouvoir rotatoire et l'indice de réduction, de même que le point de fusion, concordent bien avec ceux du méthylglucoside β .

Les produits d'hydrolyse de l'oside étudié, sont donc l'*hydroquinol* et le *glucose*.

On a réuni, dans le tableau ci-dessous, les constantes caractéristiques de l'arbutoside du *Grevillea robusta* A. Cunn données par Em. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ [67] et celles de l'arbutoside du *Lathyrus niger* Bernh :

	Arbutoside du <i>Grevillea robusta</i> Cunn.	Arbutoside du <i>Lathyrus niger</i> Bernh.
Forme cristalline.....	aiguilles	aiguilles
Teneur en eau.....	6	6,2
Point de fusion.....	+ 195°	+ 195°
Pouvoir rotatoire hydraté.....	—61°,1 —61°,8	—61°,65—61°,45
— — anhydre.....	— 65°,1	—65°,76—65°,73
Indice de réduction (acide)	»	708
— — (émulsine).	709-735	716

L'identité est certaine.

Les essais biochimiques, nous ayant laissé entrevoir la présence possible du dérivé méthylé de l'arbutoside, nous avons tenté, sur le produit obtenu, le dosage des groupements méthoxy en utilisant la méthode de ZEISEL. Les résultats ayant été négatifs, on peut en conclure qu'il n'y a pas de méthylarbutoside mélangé à notre hétéroside.

II. — Racines.

1° Essai biochimique.

Ces racines ont une forme tout à fait typique, qui rappelle vaguement celle des salsifis. Elles ont été arrachées le 4 mai 1931 dans la même station que les feuilles et stabilisées, d'une façon identique, aussitôt après la récolte.

L'alcool, récupéré par distillation sous pression réduite, a laissé un extrait qui a été dilué au moyen d'eau distillée, de façon à représenter son poids de plantes fraîches.

Tous nos examens et dosages ont été faits dans les mêmes conditions que pour les tiges foliées ; ils sont résumés dans le tableau suivant :

Déviatiôn ($t = 2$)	{	Initiale.....	+ 3°5'
		Après action de l'invertine.....	— 14'
		Après action de l'émulsine.....	— 29'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial.....	0 g.,080
		Après action de l'invertine.....	2 g.,209
		Après action de l'émulsine.....	2 g.,279
Par l'invertine	{	Changement de rotation (recul).....	3°19'
		Sucre réducteur formé	2 g.,129
		Indice de réduction	642
Par l'émulsine	{	Changement de rotation (recul).....	15'
		Sucre réducteur formé	0 g.,070
		Indice de réduction	280

En étudiant ces résultats, on constate que l'activité de l'invertine s'est manifestée par un changement de rotation vers la gauche de 3°19' et par une augmentation des sucres réducteurs de 2 g.,129. Notons seulement des traces de matières réductrices dans la solution initiale. Après action de la sucrase, l'indice est de 642, il est donc un peu trop élevé pour identifier uniquement le saccharose. L'émulsine continuant l'hydrolyse commencée par l'invertine, la déviation poursuit sa marche de 15' vers la gauche, avec formation correspondante de 0 g.,070 de sucre réducteur : Soit un indice de réduction de 280.

Ce qui frappe, tout d'abord, dans cette analyse, c'est l'absence d'hétéroside, tout au moins d'arbutoside. Aucun retour à droite n'en indique la présence. D'autre part, la solution hydrolysée par l'émulsine ne fournit pas les réactions colorées observées chaque fois qu'il se

forme de l'hydroquinol. Or, si l'on se reporte à l'essai biochimique des tiges feuillées, récoltées à la même époque, on constate une quantité notable d'arbutoside. Nous nous trouvons donc en présence d'un hétéroside abondant dans les feuilles, mais inexistant dans les racines.

Il est difficile d'interpréter les résultats de cet essai. Toutefois, d'après les indices 642 et 280 fournis par action de l'invertine et de l'émulsine, on peut envisager la présence du raffinose, dont les indices correspondants sont 630 et 254. Il faudrait cependant expliquer la raison pour laquelle la déviation devient et reste lévogyre, après action de la sucrase. Existerait-il, dans la racine d'orobe noir, un produit lévogyre peut-être hétérosidique, non touché par les ferments employés ? Seule l'extraction des différents principes pourra nous renseigner à ce sujet. D'autre part, il est possible que nous nous trouvions, simplement, en présence d'un mélange de saccharose avec d'autres holosides à pouvoir rotatoire plus élevé.

2° Extraction d'acide glycyrrhizique.

Nous avons remarqué, au cours de nos manipulations sur les racines de la plante, une odeur spéciale, rappelant nettement celle de la réglisse. La solution aqueuse présentait en outre la saveur caractéristique de la glycyrrhizine. Ces faits nous ont incité à rechercher la présence de ce principe dans la solution extractive.

Nous avons observé, d'autre part, que l'extrait aqueux, abandonné au repos, laissait déposer sur les parois du récipient, une pellicule d'aspect gélatineux et parfois cristallin. Ce produit ne représentait cependant que des pseudo-cristaux, s'écrasant au moindre toucher. Pour isoler le sel, nous avons suivi la méthode de TSCHIRCH et CEDERBERG [365] : On dissout les dépôts dans de l'eau tiède ; la solution est ensuite additionnée d'acide sulfurique jusqu'à cessation de précipité floconneux ; ce dernier étant légèrement soluble dans l'acide

sulfurique étendu. Après repos, on décante le liquide acide clarifié. Le précipité se présente sous la forme d'une masse sirupeuse qu'on lave avec de l'eau distillée froide, afin d'enlever les traces d'acide. La masse est essorée, solubilisée dans son triple volume d'alcool, puis filtrée. Le filtrat, traité de nouveau par deux fois son volume d'alcool, abandonne une substance brune, gommeuse ; on évapore la liqueur alcoolique dont le résidu est redissous dans de l'alcool. L'addition d'éther à cette nouvelle solution, provoque un léger précipité. Une fois le filtrat évaporé, le résidu est pulvérisé et donne finalement une poudre jaune, de saveur très sucrée, soluble dans l'alcool étendu, l'alcool méthylique, l'acide acétique ; le principe est insoluble dans l'éther, le chloroforme. Dans l'eau chaude, il se dissout facilement, mais la solution se prend en gelée par refroidissement.

Pour obtenir le produit à l'état cristallisé, nous sommes passé par son sel de potassium. La solution alcoolique d'acide glycyrrhizique fut concentrée et additionnée de potasse alcoolique, jusqu'à transformation de la couleur gris jaune du précipité en jaune orangé, ce qui demande un léger excès de liqueur alcaline. Il s'est formé finalement une masse cornée, gris jaune, de glycyrrhizate tripotassique qui fut lavée à l'alcool, puis solubilisée à chaud dans son double volume d'acide acétique. Par refroidissement, nous avons obtenu de beaux cristaux qui furent essorés et lavés dans l'acide acétique. Ces cristaux représentent, d'après TSCHIRCH, le sel monopotassique de l'acide glycyrrhizique.

Pour préparer l'acide lui-même, on traite la solution alcoolique, très diluée, de ces cristaux par le sous-acétate de plomb, le glycyrrhizate de plomb obtenu est recueilli, mis en suspension dans de l'alcool étendu, puis décomposé par un courant d'hydrogène sulfuré ou par de l'acide sulfurique étendu.

Le filtrat, après avoir été concentré et amené à siccité, est repris par de l'acide acétique. L'acide glycyrrhizique cristallise alors sous forme de houppes ou d'écailles in-

colores. Par recristallisation dans l'alcool, nous l'avons obtenu en prismes.

Propriétés des cristaux. — Les cristaux, séchés à 60°, puis dans le vide sulfurique, fondent à 205°, après brunissement et ramollissement vers 70°. Ils ont une saveur très douce et sont solubles dans les mêmes solvants que leur sel de potassium.

Le corps est optiquement inactif.

Nous n'avons fait aucune recherche spéciale concernant ce produit. D'après TSCHIRCH et CEDERBERG, l'acide glycyrrhizique n'est pas contenu dans la réglisse à l'état de sel ammoniacal, il se présente sous la forme d'un mélange de glycyrrhizate de potassium et de glycyrrhizate de calcium.

La formule de ce principe est encore mal définie, comme l'ont montré en 1920, dans une étude remarquable, P. KARRER, W. KARRER et C. CHAO [284].

Nous avons suspendu nos recherches, afin de ne pas détruire une des rares stations de *Lathyrus niger* Bernh existant dans la région lorraine.

III. — Fleurs.

Essai biochimique.

Ces fleurs apparaissent de mai à juillet. Elles sont d'abord rouge violacé, puis bleuâtres. Dans la station habituelle, nous en avons récolté 285 g.

Les examens et dosages ont été faits sur des solutions préparées dans les mêmes conditions que précédemment.

Voici les résultats obtenus :

Déviation	{	Initiale.....	— 2°47'
($l = 2$)	{	Après action de l'invertine	— 3°16'
	{	Après action de l'émulsine	+ 39'

Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	Initial	1 g.,341
		Après action de l'invertine	1 g.,865
		Après action de l'émulsine	4 g.,570
Par l'invertine	{	Changement de rotation (recul)	29'
		Sucre réducteur formé	0 g.,524
		Indice de réduction	1084
Par l'émulsine	{	Changement de rotation (retour)	3°55'
		Sucre réducteur formé	2 g.,705
		Indice de réduction	690

D'après cet essai :

La solution initiale, lévogyre à l'origine, voit sa déviation s'accroître vers la gauche sous l'action de la sucrase ; le changement est de 29', avec formation de 0 g.,524 de sucre réducteur. L'indice de réduction obtenu (1084) est très élevé et ne nous donne pas d'indication.

Toutefois, en se rappelant l'action de l'invertine découverte par COLIN et ses élèves, il est possible d'imaginer la présence, dans les fleurs de *Lathyrus niger* Bernh, de fructoholosides dont les indices sont aux environs de 1000. Nous ne pouvons tirer de ce fait aucune conclusion.

Il n'en est pas de même des résultats fournis par l'émulsine. Sous son action, il se produit un retour très important de la déviation vers la droite (3°55'), avec formation de 2 g.,705 de sucre réducteur. L'indice de réduction calculé est de 690, soit sensiblement l'indice théorique de l'arbutoside (700).

Nous avons traité la solution fermentaire par de l'éther, à plusieurs reprises. L'évaporation de ces liquides étherés nous a fourni un résidu blanc, cristallin, dont le point de fusion au bloc de MAQUENNE est de 166°.

Il donne les réactions générales citées pour l'hydroquinol. Devant ces faits, nous avons tenté l'extraction de l'hétéroside en utilisant l'appareil déjà décrit (v. p. 193) et nous sommes parvenu à isoler un corps cristallisé dont les caractères correspondent à ceux de l'arbutoside. Ce principe existe donc dans les fleurs.

En nous reportant aux proportions théoriques de glucose dans l'arbutoside, d'après la formule chimique de ce corps, il y aurait, dans 100 g. de fleurs, 2 g. d'hétéroside, soit 20 g. par kilogramme. C'est, jusqu'à ce jour, la plus forte quantité d'arbutoside trouvée dans l'étude des différentes parties de la gesse noire.

IV. — Fruits verts.

Essai biochimique.

Ces recherches ont été effectuées sur 85 g. de fruits verts récoltés le 16 juillet 1930 à Lay-Saint-Christophe, et traités selon la technique habituelle. On trouvera, dans le tableau suivant, les résultats de l'essai :

Déviatiôn	{	Initiale	+ 1°12'
(l = 2)	{	Après action de l'invertine	± 0°
	{	Après action de l'émulsine	+ 34'
Sucre réducteur	{	Initial	0 g.,743
(p. 100 cm ³)	{	Après action de l'invertine	1 g.,340
	{	Après action de l'émulsine	1 g.,546
Par	{	Changement de rotation (recul)	1°12'
l'invertine	{	Sucre réducteur formé	0 g.,597
	{	Indice de réduction	497
Par	{	Changement de rotation (retour)	34'
l'émulsine	{	Sucre réducteur formé	0 g.,206
	{	Indice de réduction	364

Sous l'action de l'invertine, il se produit un retour de la déviation vers la gauche de 1°12', avec formation de 0 g.,597 de sucre réducteur. L'indice est de 497.

Sous l'action de l'émulsine, on observe l'hydrolyse d'un oside, avec retour de la rotation vers la droite et formation de 0 g.,206 de sucre réducteur : Soit un indice de 364.

Ces chiffres nous enlèvent toute possibilité d'interprétation.

Au moment de la formation des fruits, il est probable que, par suite des changements dans le métabolisme de la plante, il se forme une série de glucides intermédiaires qui viennent s'accumuler dans les graines. Seule, une extraction sur une grande quantité de produit, chose actuellement impossible, pourrait peut-être apporter quelques éclaircissements à cette question.

§ II. — **VARIATIONS ANNUELLES DE QUELQUES GLUCIDES DANS LES TIGES FOLIÉES DU *LATHYRUS NIGER* BERNH.**

La rareté de la gesse noire en Lorraine nous a contraint à limiter nos recherches aux parties foliées. Nous avons cependant bien établi que les racines de la plante ne contenaient pas d'arbutoside. Le fait mérite d'être signalé, car il semble assez généralisé pour cet hétéroside dans le règne végétal.

Avant d'entreprendre l'étude des variations chimiques des différents glucides, il nous a paru nécessaire de connaître, tout d'abord, les divers ferments susceptibles de transformer et de modifier ces substances de réserve.

1° Recherche et identification de quelques diastases dans les tiges foliées et les racines.

Nous avons recherché, dans les tiges foliées et les racines du *Lathyrus niger* Bernh, la sucrase et la glucosidase β , ferments respectifs importants de l'invertine et de l'émulsine des amandes.

A cet effet, nous avons suivi les méthodes classiques et nous avons opéré sur des solutions contenant 1 p. 100 de saccharose, d'amygdalosite, de méthylglucoside β , et d'arbutoside.

1° Tiges foliées. — La poudre fermentaire de feuilles, employée pour cet essai, a été préparée suivant le mode opératoire de Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY, modifié par J. CHEYMOL : On broie au hachoir un poids con-

nu de tiges foliées qu'on traite par trois fois son volume d'alcool à 90° dans un flacon émeri. Après 48 heures de contact, avec agitation fréquente, on essore le tout et on lixivie le résidu par 6 fois son poids d'alcool fort.

C'est cette poudre, séchée à l'air libre, puis à l'étuve à 37°, qui nous a servi pour nos expériences.

On a ajouté 1 g. de ce complexe fermentaire à 100 cm³ de solution des différents osides et le mélange a été porté à l'étuve à + 30°.

Le tableau ci-dessous rend compte des observations polarimétriques faites après filtration et défécation des liqueurs ; les résultats obtenus ont été ramenés au volume primitif :

	Au départ	Après 2 jours	Après 14 jours	Après 35 jours
Saccharose	+ 1°18'	+ 40'	— 20'	— 20'
Amygdalosite . . .	— 42'	— 46'	— 20'	+ 13'
Arbutosite	— 1°18'	— 1°6'	— 33'	+ 7'

Nous voyons que la poudre fermentaire est active sur ces différents osides.

En quatorze jours, le saccharose a été entièrement hydrolysé. L'action s'est fait sentir immédiatement, car la liqueur était réductrice dès le lendemain de l'essai. La sucrase contenue dans la poudre fermentaire manifeste donc son activité très rapidement.

Il n'en est pas de même pour la glucosidase β , qui est également présente, mais qui agit beaucoup plus lentement ; il nous a fallu en effet, plus d'un mois pour constater une déviation dextrogyre dans nos essais.

En ce qui concerne l'amygdalosite, les liqueurs réduisaient à peine le réactif cupro-potassique après 3 jours de contact, et ne dégageaient qu'une très faible odeur d'acide cyanhydrique.

L'arbutosite, au contraire, était plus rapidement hydrolysé et la solution devenait nettement réductrice dès le lendemain de l'expérience.

Ces différentes vitesses d'hydrolyse des hétérosides laisseraient logiquement supposer la présence, dans cette

poudre fermentaire, d'une ase spécifique de l'oside phénolique. W. SIGMUND [353] a démontré, dès 1909, que le *Calluna vulgaris* et le *Vaccinium myrtillus* renferment un enzyme qui dédouble l'arbutoside en glucose et en hydroquinol. Cette diastase a pu être isolée par précipitation alcoolique. L'auteur l'a appelée arbutase. Elle diffère sensiblement de l'émulsine, car elle n'a pas d'action sur l'amygdaloside.

2° *Racines*. — Nous sommes parti d'une poudre fermentaire préparée d'une façon analogue à la précédente et les essais ont été faits dans les mêmes conditions.

Voici les résultats obtenus :

	Au départ	Après 2 jours	Après 18 jours
Saccharose	+ 1°18'	+ 18'	— 13'
Amygdaloside	— 42'	— 42'	— 33'
Arbutoside	— 1°18'	— 1°4'	— 52'
Méthylglucoside- β	— 40'	— 40'	— 35'

En mettant à part la sucrase, dont l'activité semble la même que dans la poudre fermentaire de feuille, nous voyons que la glucosidase β doit n'exister ici qu'à l'état de trace et qu'elle agit très peu. En 18 jours, les solutions hétérosidiques, même celle d'arbutoside, ne sont pas devenues dextrogyres.

Comment pouvons-nous interpréter ces résultats ?

La sucrase hydrolyse activement les sucres aussi bien dans les feuilles que dans les racines, cela n'a rien d'étonnant, car nous avons vu dans les essais biochimiques qu'il existait, dans les différents organes, des osides dédoublables par ce ferment.

La glucosidase β est plus active sur l'amygdaloside dans la poudre de feuille que dans celle de racine ; nous pouvons expliquer ce fait, par la présence, dans les organes foliés, d'un hétéroside tributaire de son action.

En ce qui concerne l'arbutoside lui-même, le problème est plus délicat, la poudre de racine l'hydrolyse très lentement, bien que les recherches aient montré l'absen-

cé d'hétéroside dans les racines. Les actions diastasiques étant à peu près identiques, il est probable que le même ferment dédouble ici l'amygdalosite et l'arbutosite.

Variations annuelles de quelques glucides.

L'orobe noir présente un intérêt particulier, du fait qu'il renferme simultanément holosite et hétéroside. Le sucre possède un indice de réduction enzymolytique qui oscille autour de celui du saccharose. Malheureusement, l'absence de matière première nous a mis dans l'obligation d'en retarder jusqu'à présent l'extraction.

La période d'activité aérienne de la plante s'étend de mai à octobre. Nos récoltes ayant lieu à proximité de Nancy, tous nos prélèvements furent pratiqués aux mêmes heures et stabilisés par l'alcool bouillant peu de temps après.

Les essais biochimiques ont eu lieu chaque mois. Nous avons étudié successivement les variations des oses (réducteurs initiaux), puis celles des osides (holosides et hétérosides), en hydrolysant ces derniers par l'invertine, puis par l'émulsine.

Dans la préparation des extraits fluides, nous avons adopté le mode opératoire déjà décrit à l'occasion du premier essai biochimique. Il est à remarquer, à propos de l'obtention des liqueurs glucidiques, que celles-ci doivent être totalement dépourvues d'alcool. Des traces de ce corps entravent considérablement l'hydrolyse provoquée par l'émulsine.

D'après les résultats fournis par les différents essais, on constate :

1° Pour les holosides, des indices variant dans des limites assez étroites (544 à 686) et suffisamment voisins de l'indice du saccharose pour qu'on puisse soupçonner la présence de ce sucre dans l'orobe noir.

Il ne faut pas oublier que les propriétés réductrices de l'hydroquinol, qui existe parfois à l'état de trace dans les solutions extractives, sont un obstacle à la précision habituelle de la méthode biochimique.

2° En ce qui concerne l'arbutoside, nous observons des indices beaucoup plus stables, oscillant de 590 à 680, mais toujours nettement inférieurs à l'indice classique de l'hétéroside (700).

Existerait-il, à côté de l'arbutoside, un principe voisin hydrolysable par l'émulsine et d'indice inférieur, tel que le méthylarbutoside ?

C'est peu probable, parce que la recherche des groupes méthoxy par la méthode de ZEISEL a été négative ; nous sommes persuadé qu'il faut attribuer l'origine de ces fluctuations à l'hydroquinol.

Il est certain, comme nous l'avons constaté dans de nombreux essais, qu'il se produit rapidement, dans les extraits fluides, une altération du diphénol en présence de substances particulièrement oxydantes, et plus spécialement des ferments ; on remarque, par suite, une diminution dans le pouvoir réducteur des solutions.

Pour toutes ces raisons, nous avons évalué, dans nos recherches, la quantité d'arbutoside, en nous basant uniquement sur le changement de déviation dextrogyre observé sous l'action de l'émulsine, et en ne tenant pas compte des matières réductrices influençables par l'hydroquinol.

Dans ces conditions, un retour de 1° équivaut à 0 g.,500 d'hétéroside.

Etudions rapidement les résultats obtenus :

Variation du sucre réducteur initial.

On peut noter deux phases distinctes :

D'une part, un accroissement continu du sucre réducteur initial, débutant par une progression très douce durant le mois de mai et le mois de juin (0 g.,217 à 0 g.,271). Cette augmentation s'accélère en juillet, puis en août et, durant ce mois, la proportion des oses passe du simple au double pour atteindre un maximum (0 g.,818). D'autre part, on assiste, du mois d'août au mois de septembre, à une chute lente des mêmes principes. Cette diminution s'intensifie en octobre (0 g.,425).

Comparons ces modifications ;

TABLEAU VIII.

Résultats généraux des essais biochimiques.

Résultats fournis pour 100 g. d'organes frais		4 mai	27 mai	13 juin	16 juillet	20 août	23 septemb.	31 octobre
Matières sèches pour cent		18'	20	26	27	31	33	33
Déviati (l = 2)	initiale après invertine après émulsine	— 1°12' — 1°27' + 51'	— 1°34' — 2° + 1°12'	— 1°41' — 2°10' + 1°	— 58' — 2° 3' + 43'	+ 22' — 1°41' + 29'	— 36' — 1°27' + 51'	— 1° 5' — 2° 3' + 36'
Sucré réducteur (p. 100 cm ³)	initial après invertine après émulsine	0 g., 217 0 g., 363 1 g., 815	0 g., 240 0 g., 507 2 g., 537	0 g., 274 0 g., 538 2 g., 693	0 g., 440 1 g., 153 3 g., 029	0 g., 848 2 g., 004 3 g., 279	0 g., 700 1 g., 262 2 g., 623	0 g., 425 0 g., 951 2 g., 546
Par l'invertine	changement de rotation (recul). sucré réduct. formé. indice de réduction.	15' 0 g., 146 584	26' 0 g., 267 616	29' 0 g., 267 552	1°5' 0 g., 743 686	2°3' 1 g., 183 577	51' 0 g., 502 661	58' 0 g., 526 544
Par l'émulsine	changement de rotation (retour). sucré réduct. formé. indice de réduction.	2°18' 1 g., 452 631	3°42' 2 g., 030 634	3°10' 2 g., 155 680	2°46' 1 g., 876 677	2°10' 1 g., 278 590	2°18' 1 g., 361 591	2°39' 1 g., 595 601
Arbutoside retour de la déviation	(calculé d'après le retour de la déviation	1 g., 45	1 g., 60	1 g., 58	1 g., 38	1 g., 08	1 g., 15	1 g., 33

Variations de quelques glucides des tiges foliées de la gesse noire au cours de la végétation annuelle
(Mai-Octobre 1930).

1° Aux variations des sucres réducteurs formés par l'invertine.

2° Aux variations de l'hétéroside (arbutoside).

Variation du sucre réducteur formé par l'invertine.

L'indice de réduction enzymolytique oscille, comme nous l'avons déjà vu, entre 544 et 686, c'est-à-dire au voisinage de l'indice du saccharose (603). Nous avons d'ailleurs enregistré cet indice théorique au cours de l'étude entreprise ultérieurement, au sujet de l'influence des conditions de dessiccation sur la composition glucidique des feuilles de *Lathyrus niger* Bernh.

Les variations sont sensiblement identiques à celles du sucre réducteur initial. A quelques différences près, les courbes suivent les mêmes inflexions. Les proportions augmentent très doucement de mai à juin (0 g.,146 à 0 g.,267), elles s'accroissent en juillet, atteignent un maximum en août (1 g.,183), puis retombent brusquement en septembre, pour décroître ensuite plus lentement jusqu'en octobre (0 g.,526).

Nous examinerons l'interprétation possible de ces courbes, après l'étude des variations de l'arbutoside.

Variation de l'hétéroside (arbutoside).

Nous avons indiqué, comme indice moyen pour ces variations, quelques valeurs allant de 590 à 680. Ces chiffres sont assez éloignés de l'indice théorique de l'arbutoside vrai (700).

Toutefois, nous ferons remarquer que cette constante a été établie en admettant comme pouvoir rotatoire de l'arbutoside $[\alpha]_D = -65^\circ$ et, pour chaque dosage par la méthode de G. BERTRAND, une teneur des solutions en hydroquinol de 8 mg. à 14 mg.

La présence, dans les extraits, de corps plus ou moins oxydants, par leur action sur le diphénol, a pu, tant soit peu, modifier ces proportions. D'ailleurs, l'hétéroside isolé à l'état pur, a fourni, par hydrolyse fermentaire ou acide, des indices analogues à l'indice théorique. Nous avons trouvé respectivement 708 et 716.

Le tableau, qui résume tous nos résultats, correspond à 7 essais biochimiques effectués durant les six mois de végétation aérienne de la plante. Pour saisir plus facilement ces variations, et donner à notre exposé une forme plus concrète, nous avons schématisé le tableau général par un graphique indiquant les proportions des oses, de l'holoside et de l'arbutoside aux diverses périodes du cycle évolutif.

Les courbes ont été obtenues dans les mêmes conditions que pour la gesse tubéreuse (1). Nous les avons fait partir du mois de mai, ce mois coïncidant avec la reprise de la végétation de la gesse noire, en Lorraine, pour l'année 1930.

L'examen de la courbe des variations de l'arbutoside permet de distinguer deux phases :

D'une part, les proportions de l'hétéroside augmentent assez fortement (1 g.,15) dès le début de la végétation, époque d'apparition des pousses, pour atteindre un maximum à la fin de mai (1 g.,60).

Durant le mois de juin, cette quantité se maintient sensiblement stationnaire (1 g.,58). Elle diminue ensuite en juillet (1 g.,38) et cette décroissance se poursuit en août (1 g.,08).

D'autre part, dès la fin d'août, on observe une reprise de la teneur en hétéroside ; celle-ci atteint 1 g.,15 en septembre et continue à augmenter jusqu'à la fin de la période de végétation aérienne (1 g.,33 en octobre).

Interprétation des courbes.

Si nous jetons un rapide coup d'œil sur les courbes glucidiques, nous voyons que les oses initiaux et les su-

(1) Voir p. 152.

cles réducteurs formés par l'invertine, présentent des variations annuelles sensiblement identiques, à part quelques points d'inflexion, plus ou moins accentués, que nous essaierons d'interpréter.

Les variations de l'arbutoside, comparées à celles des oses et des holosides, sont particulièrement intéressantes. Exception faite du mois de mai, qui représente une phase très spéciale dans la végétation de la gesse noire, nous remarquons deux courbes tout à fait caractéristiques. Elles traduisent des oscillations de sens opposés. Le maximum de l'une correspond au minimum de l'autre et se situe à la mi-août.

Il semblerait assez logique, en examinant ce graphique, de soupçonner l'existence de relations entre ces diverses variations.

On pourrait ainsi tirer quelques indications sur l'utilisation possible de l'hétéroside par la plante. Nous reviendrons ultérieurement sur ce sujet.

Etudions maintenant le tableau général, et suivons le *Lathyrus niger* Bernh dans son cycle végétatif. Le 27 mai, la plante, dont les jeunes pousses sont apparues tout au début du mois, est en pleine activité assimilatrice. Les oses et les sucres hydrolysables augmentent lentement, utilisés peut-être pour la formation de l'arbutoside. Ce dernier subit en effet, un accroissement, très rapide en mai. Du fait qu'il n'en existe pas de trace, dans les racines, comme nous l'avons vu précédemment, ses variations ne dépendent que de l'activité des parties aériennes. Ce qui semble confirmer cette hypothèse, c'est l'équilibre qui s'établit durant la première quinzaine du mois de juin, où nous observons les trois courbes relativement en palier.

Avec l'époque de la floraison, on constate une légère tendance à la diminution de l'hétéroside. Celle-ci s'explique aisément par l'essai biochimique des fleurs qui a montré que ces organes sont très riches en arbutoside et en renferment 20 g. par kg. Il y aurait là un afflux de l'hétéroside pour un rôle encore indéterminé,

La fin du mois de juin ainsi que les mois de juillet et d'août sont marqués par la fructification. Cette période correspond à une chute brutale dans la teneur en hétéroside, simultanément on note une ascension concomitante des oses et des sucres hydrolysables.

Un changement radical dans les variations glucidiques nous est apparu le 20 août par suite de l'essai biochimique effectué à cette date. Nous estimons que ce renversement survenu dans le métabolisme de ces substances chez la gesse noire doit surtout concorder avec une légère reprise de végétation en août-septembre. En raison de l'activité très faible de la plante, on constate, en même temps qu'une nouvelle formation d'arbutoside, une chute dans la proportion des sucres réducteurs initiaux et des sucres hydrolysables.

Il serait intéressant de rechercher la présence de l'hétéroside dans les graines, malheureusement, des raisons spéciales nous empêchent de récolter la moindre semence à la station de Lay-Saint-Cristophe. Nous avons néanmoins tenté des essais sur les gousses vertes, avant le fauchage des sentes forestières, mais les graines, mal formées, nous ont donné des résultats trop incertains pour qu'il nous soit possible d'en tirer des indications précises.

Nous signalerons, au sujet de ces variations, que le méliatoside, dans le trèfle d'eau [99], et le gentiopicroside [99], dans la gentiane jaune, arrivent à leur maximum annuel, comme l'arbutoside de la gesse noire, à l'époque de la floraison.

Conclusions.

Il existe très probablement des rapports entre ces trois variations. Les courbes observées laissent supposer qu'il se crée un équilibre entre les oses, l'holoside et l'hétéroside. On pourrait admettre que, dans certaines circonstances, l'arbutoside se transforme, par dédoublement, en sucre réducteur initial, c'est-à-dire en ose assimilable

par la plante et en hydroquinol. Le diphénol, dès sa formation printanière, se souderait au glucose, sous forme d'hétéroside, en attendant peut-être l'époque de la floraison ?

Nous nous trouvons ici, en ce qui concerne l'utilisation de l'arbutoside par les plantes, en plein accord avec WEEVERS. Il est difficile, d'après ces observations, de considérer cet hétéroside comme une substance de déchet. Il semble plutôt constituer un principe mixte de réserve, ou mieux un régulateur que la gesse utilise principalement au mois de juillet.

D'après les études de WEEVERS sur le poirier, le diphénol resterait inemployé, et la plante utiliserait seulement la partie sucrée, réservant l'hydroquinol pour reformer ultérieurement, par synthèse, de l'arbutoside avec les sucres réducteurs en excès.

Nous reviendrons dans le chapitre suivant sur les différentes hypothèses qui ont été émises à ce sujet.

§ III. — MÉLANOGENÈSE CHEZ LES VÉGÉTAUX ET, EN PARTICULIER, CHEZ LE *LATHYRUS NIGER* BERNH.

Les botanistes ont, depuis longtemps, remarqué le noircissement de certains végétaux par dessiccation.

Cette coloration des plantes, *post-mortem*, est un phénomène très répandu dans la nature et encore relativement peu étudié.

En dehors des travaux de MAQUENNE et de DEMOUSSY [298, 299], nous devons citer les expériences de GUÉRIN et de ses collaborateurs [243, 244, 245].

Tous ces auteurs sont d'accord pour voir, dans le noircissement des feuilles, le résultat d'actions généralement diastasiques ; il y a cependant des cas où la mélanogenèse est d'ordre purement chimique.

Des essais particuliers ont été faits par J. POUGET [326], en 1920, qui utilisait pour ses expériences l'action des rayons ultra-violet. Les résultats sont comparables

à ceux obtenus sous l'action du chloroforme et de l'éther ; M. POUSSET [327], cette année, vient d'étudier en détails, les effets de ces anesthésiques.

Nous nous sommes proposé de rechercher simplement, dans le *Lathyrus niger* Bernh, la nature du chromogène et le rôle joué par les ferments dans la coloration. Préalablement, dans un court aperçu, nous allons résumer les connaissances actuelles sur cet important phénomène :

La mélanogenèse est, au sens large du mot, la formation d'une coloration foncée aux dépens de principes déterminés. Elle n'a pas toujours la même origine, comme ont pu le faire remarquer, en dehors des auteurs déjà cités, M. BRIDEL et C. CHARAUX dans leurs études des orobanches [137], et du *Lathræa clandestina* L. [119].

Dans un travail détaillé, Mlle BRAECKE [91] a remarquablement mis au point cette question.

Le phénomène, assez complexe, est généralement le résultat d'un processus de fermentation. On peut se demander, lorsqu'on connaît l'activité considérable des diastases, si le chromogène et les ferments se trouvent toujours dans des cellules différentes. Selon Mlle BRAECKE, on pourrait concevoir, dans une même cellule, d'une part, les ferments de nature albuminoïde existant dans le cytoplasme, d'autre part, localisés dans les vacuoles, les corps chimiques susceptibles d'être transformés. La séparation se ferait par l'endoplasme plus ou moins semi-perméable.

A la mort des tissus, la floculation des colloïdes détruirait la semi-perméabilité de la membrane endoplasmique. Par suite, le suc alcalin du cytoplasme diffusant dans le suc cellulaire acide, l'action fermentaire se produirait ainsi que la coloration.

D'après R. CHODAT et E. ROUGE [176], qui ont étudié la localisation intracellulaire des oxydases, l'activité potentielle de ces ferments pourrait être inhibée par l'auto-régulation des tissus vivants.

Quoi qu'il en soit, si l'explication de ces différentes réactions n'est pas encore parfaite, la mise en évidence

de la coloration est, par contre, facile. GUIGNARD [249] avait indiqué, dès 1909, un procédé. M. BRIDEL, C. CHARRAUX [141] et nous-même [302], l'avons respectivement employé.

Il suffit de suspendre un pied de *Lathyrus niger*, par exemple, dans un flacon dont l'atmosphère est saturée de vapeurs d'éther pour voir lentement la teinte verte passer au noir. Il y a plasmolyse, par suite de la pénétration de l'anesthésique dans les tissus, et le noircissement est dû à l'action d'un ferment sur un principe chromogène que renferme la plante. La coloration est moins rapide chez l'orobe noir que chez l'orobe tubéreux ; l'origine différente des chromogènes nous en donnera la raison.

Dans la mélanogenèse, deux groupes de phénomènes sont à distinguer. D'une part, une transformation sans l'intervention d'un processus fermentaire ; d'autre part, un changement de teinte dû à l'action des ferments oxydants et des ferments hydratants.

a) *Dans le 1^{er} groupe*, les cas sont assez rares et proviennent, comme l'a montré Mlle A. SENGLET [350] pour les jeunes châtons et les jeunes feuilles de noyer, d'un phénomène d'auto-oxydation dépendant du pH du suc cellulaire qui tend vers l'alcalinité lors de la dessiccation lente.

b) *Dans le 2^e groupe*, qui nous intéresse plus particulièrement pour le cas du *Lathyrus niger* Bernh, nous ferons une distinction entre l'action des ferments oxydants et celle des ferments hydratants.

Ferments oxydants. — En dehors de toute présence hétérosidique, la variation de teinte peut provenir de l'action de ces ases sur différents principes facilement oxydables.

a) *Sur les phénols.* — Th. WEEVERS [385] a montré que sous l'action d'une catécholase, les dioxybenzols tels que le pyrocatéchol ou ortho-dioxybenzol étaient oxydés

en fournissant une coloration noire. C'est ce qui se produit chez diverses espèces de *Salix* et de *Populus*.

L'hydroquinol ou para-dioxybenzol, signalé par HESSE [278], dans les feuilles du *Protea mellifera*, puis par G. RIVIÈRE et G. BAILHACHE [341] dans la matière visqueuse qui recouvre les bourgeons chez le poirier et dans les feuilles (Th. WEEVERS [385], brunit rapidement sous l'action d'un ferment oxydant. Le phénomène ne présente d'ailleurs rien d'étonnant, car G. BERTRAND, dès 1896 [8], a démontré que la laccase oxydait, plus ou moins rapidement, les polyphénols.

C'est le cas de l'esculétol, chromogène des jeunes marons frais de l'*Æsculus Hippocastanum*, découvert par G. BERTRAND et Mlle V. DJORITCH [17], et qui s'oxyde rapidement sous l'influence de la laccase.

b) *Sur les sels d'acide-phénols.* — Le bolétol isolé par G. BERTRAND [11, 12] de différents bolets en est le type. Si l'on a soin de salifier préalablement la solution aqueuse de ce principe, par un sel alcalin, magnésien ou alcalino-terreux, on obtient une coloration bleue sous l'action de la laccase ou de l'extrait glycérolé de russule.

L'orobérol, extrait par M. BRIDEL et C. CHARAUX [141] de l'*Orobis tuberosus* L. (= *Lathyrus macrorhizus* Wimmer); donne, dans des conditions identiques, par action des mêmes ferments, une coloration bleu noirâtre.

c) *Sur les amino-acides aromatiques.* — L'oxydation de la tyrosine, produit bien connu dans la nature, est également une source de mélanogenèse. Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY [69] lui attribuent le noircissement intense des gousses de grosses fèves. Em. BOURQUELOT et G. BERTRAND [44, 45] ont mis en évidence ce phénomène pour quelques espèces de champignons. G. BERTRAND [9] a réussi à prouver, presque simultanément, que cette action était due uniquement à la tyrosinase et que la laccase, présente dans le même champignon, n'agissait que sur les phénols.

Plus récemment, TORQUATI [362, 363] a montré que la présence de la dioxyphénylalanine était également une source de noircissement pour les végétaux. Ce corps serait à l'origine de la coloration des gousses de *Vicia faba* L.

d) *Sur les tanins.* — J. ZENDER [392], pour la musacatéchine de l'épicarpe des bananes, et Mlle A. SENGLÉ [350], dans les feuilles de *Ilex paraguariensis* St-Hil, ont bien étudié cette oxydation qui se traduit par une coloration foncée.

En présence d'hétéroside, nous n'avons à signaler qu'un seul cas d'oxydation directe par les ferments oxydants. Il a lieu pour l'orobanchoside, isolé, puis étudié par M. BRIDEL et C. CHARAUX [134, 137] dans les tubercules frais d'*Orobanche Rapum* Thuill. Ce corps s'oxyde sous l'influence du suc glycérolé de *Russula delica* Vaill. C'est ce phénomène qui fait rapidement passer au brun la couleur jaune clair d'une section de tubercule d'orobanche.

Ferments hydratants. — L'action de ces ferments se porte essentiellement sur les hétérosides, mais, parfois selon des processus différents. Il peut y avoir, comme nous l'avons indiqué [302] :

1° Dédoublément diastasique et polymérisation du produit d'hydrolyse non glucidique.

C'est le cas de l'aucuboside et de l'aspéruloside, hétérosides déjà entrevus, qui donnent une matière colorante noire ; c'est également le cas du méliatoside et du monotropéoside, qui donnent une matière colorante bleu foncé.

2° Dédoublément diastasique et oxydation ultérieure du produit d'hydrolyse, de nature phénolique.

L'arbutoside est scindé en glucose et en hydroquinol, et celui-ci, par oxydation, se transforme en une matière brune. Ceci nous explique la production des teintes automnales des feuilles de poiriers, phénomène mis nettement en évidence par E. BOURQUELOT et A. FICHTENHOLZ

[64]. Toutefois, Th. WEEVERS [385] avait déjà signalé que le para-dioxybenzol était le chromogène de certains *Pirus* et du *Vaccinium Vitis-Idæa* L.

Le méthylarbutoside donne lieu à une coloration analogue, cependant le méthylhydroquinol formé, ne provoque que le jaunissement des feuilles.

Mélanogenèse chez le *Lathyrus niger* Bernh.

Après cette vue d'ensemble sur les causes du noircissement chez les végétaux, il nous reste à expliquer la mélanogenèse dans la gesse noire.

Le *Lathyrus niger* Bernh (= *Orobis niger* L.), étant très voisin du *Lathyrus macrorhizus* Wimmer (= *Orobis tuberosus* L.) et présentant un phénomène analogue au cours de la dessiccation, nous avons songé à une identité de chromogène. Par suite, nous avons essayé d'extraire ce principe de l'orobe noir, en suivant la technique indiquée par M. BRIDEL et C. CHARAUX [141].

Sans revenir sur ces essais, disons de suite que les résultats furent négatifs. Il fallait donc supposer un chromogène d'origine différente.

Nous avons également pensé, à l'action de la tyrosinase agissant sur une leuco-base pour la transformer en mélanine. Ces idées étaient d'autant plus plausibles que R. CHODAT et H. EVARD [175] avaient décelé, dans les feuilles du *Lathyrus niger* Bernh, la présence de ce ferment, grâce au réactif p. crésol acide aminé (glycocolle). Il était cependant difficile d'expliquer ainsi la mélanogenèse très lente du végétal.

C'est en soupçonnant la nature hétérosidique du chromogène de l'orobe noir, que nous avons découvert, dans la plante fraîche, la présence d'un glucide hydrolysable par l'émulsine.

Nous avons réussi à l'extraire, comme nous l'avons déjà indiqué, à l'état pur et cristallisé, et nous l'avons identifié à l'arbutoside.

Il était désormais facile d'expliquer le noircissement

du *Lathyrus niger* Bernh, et de donner la raison pour laquelle la coloration se produit moins rapidement chez cette gesse, que chez la gesse à tiges renflées.

La mélanogenèse de l'orobe tubéreux est due à un chromogène de nature non hétérosidique, mais seulement phénolique : l'orobérol, dont l'oxydation est rapide.

Le changement de teinte de l'orobe noir provient de l'hydrolyse d'un hétéroside : l'arbutoside, dont le produit non glucidique et de nature phénolique : l'hydroquinol, ne s'oxyde qu'une fois libéré, et à la mort des tissus. La coloration est, par suite, beaucoup plus lente.

§ IV. — INFLUENCE DES CONDITIONS DE DESSICCATION SUR LA COMPOSITION GLUCIDIQUE DES FEUILLES DE *LATHYRUS NIGER* BERNH.

La richesse des feuilles de la gesse noire en arbutoside, et l'action thérapeutique de ce principe, nous ont incité à rechercher le meilleur mode de conservation de cette plante.

On sait, depuis longtemps, qu'il existe de grandes différences de composition entre les plantes fraîches et les plantes sèches, et que la proportion de principes actifs varie considérablement, suivant la manière dont les plantes ont été conservées.

Au cours de la dessiccation à l'air libre, le végétal, qui vient d'être arraché à son substratum, continue à vivre pendant quelque temps. Après avoir utilisé une partie de ses réserves glucidiques, il se fane et se dessèche.

Dans la vie ralentie qui précède la mort, on remarque que certains principes, et particulièrement ceux qui font le sujet de cette étude (holosides, hétérosides), se transforment plus ou moins, sous l'influence des ferments solubles ; non seulement la plante se déshydrate peu à peu, mais, par suite de phénomènes osmotiques, des produits primitivement séparés dans les tissus sont mis en

contact. Les dégradations de ces différents corps se poursuivent alors beaucoup plus activement et sans ordre, la vie n'étant plus là pour conditionner et régulariser ces transformations. C'est en fait ce qui se produit, assez rapidement, dans le *Lathyrus niger* Bernh, lorsqu'on le dessèche, sans précaution, à l'air libre.

Il était intéressant de savoir si l'arbutoside se trouvait hydrolysé en partie ou en totalité, et s'il convenait de substituer aux procédés habituels de dessiccation, un mode spécial de conservation.

C'est ce qui nous a conduit, pour cet hétéroside, à instituer des recherches comparatives ayant trait à la stabilisation et à la dessiccation des tiges foliées dans des conditions variées.

Stabilisation et dessiccation dans des conditions variées.

1^o Historique.

De nombreux savants se sont efforcés de conserver au végétal desséché toutes les propriétés qu'il possède à l'état frais.

Dans des travaux remarquables, échelonnés de 1890 à 1900 (1), BOURQUELOT observa les transformations provoquées par les ferments dans les végétaux au cours de leur dessiccation, et dans les préparations pharmaceutiques qui en découlent. C'est cet auteur qui eût, l'un des premiers, l'idée de la stabilisation.

Cette opération a pour but de fixer la plante dans sa composition initiale, lors de la récolte, en empêchant pour cela, toute action diastasique capable de modifier les principes immédiats du végétal.

BOURQUELOT, en 1896 [34], projetait les organes frais dans de l'alcool préalablement porté à l'ébullition. Il obtenait ainsi une stabilisation parfaite. Les principes

(1) Voir biographie de Em. BOURQUELOT (BOUGAULT et HÉRISSEY [27 a], GORIS [233]).

actifs de la plante se trouvaient alors condensés sous une forme liquide, toutefois moins maniable que le végétal à l'état sec.

D'autres chercheurs essayèrent de modifier le procédé, afin de conserver à la plante son aspect naturel.

A. GORIS et ARNOULD, en 1907, employèrent la vapeur d'eau sous pression, à $+ 105^{\circ}$ - 110° , mais cette méthode ne pouvait s'appliquer qu'aux organes résistants.

E. PERROT et A. GORIS [319], en 1909, remplacèrent la vapeur d'eau par des vapeurs de liquides beaucoup plus volatils, tel que l'alcool et l'acétone. La température étant relativement basse, il ne sortait pas de suc des cellules ; il suffisait ensuite de porter le tout à l'étuve, pour obtenir des plantes sèches, stabilisées, de conservation indéfinie. Cette technique présentait le sérieux avantage de s'appliquer aux organes délicats tels que : feuilles, fleurs, etc...

En 1924, M. K. SIEGFRIED [352] a montré que les vapeurs d'alcool sont susceptibles de provoquer, malgré tout, un phénomène extractif sur les végétaux frais. La condensation des premières vapeurs d'alcool, sur les organes froids, serait suivie d'une plasmolyse et d'une certaine exsudation de suc cellulaire. Il est possible de provoquer ainsi, au cours de la stabilisation, l'hydrolyse partielle de quelques principes ; de telle sorte que la drogue n'a plus la composition exacte de la plante fraîche.

Tout récemment, en 1927, H. S. VARCHOVICI [368] a préconisé, comme agent stabilisateur, des corps gazeux tels que l'acétylène, le formène et des liquides susceptibles de se volatiliser à basse température, comme le tétrachlorure de carbone et le chlorure d'éthyle.

D'après l'auteur, c'est l'acétylène, produit très économique, qui donnerait les meilleurs résultats sans altérer le végétal. L'emploi en est facile. Il suffit de relier l'appareil générateur de gaz au récipient contenant les organes à stabiliser. On effectue l'opération durant cinq ou dix minutes, à la température ordinaire ou à celle du bain-marie, suivant la nature du stabilisant.

2° Recherches personnelles.

Nous nous sommes borné à étudier, d'après les moyens dont nous disposions au laboratoire, quatre lots identiques de feuilles de *Lathyrus niger* L.

- A) Feuilles conservées à l'air libre.
- B) Feuilles séchées à l'étuve à 40°.
- C) Feuilles stabilisées par le procédé de BOURQUELOT.
- D) Feuilles fixées à la vapeur d'eau dans l'autoclave de SOREL.

PRÉPARATION DES PLANTES ET DES EXTRAITS.

Pour suivre les modifications chimiques dans la composition de la gesse noire, suivant les différents procédés de conservation indiqués, nous avons constitué, avec 1 kg.,960 de tiges feuillées, quatre lots et un échantillon témoin. Les plantes récoltées, à Lay-Saint-Christophe, près de Nancy, furent apportées au laboratoire une heure après la cueillette. Elles avaient gardé toute leur fraîcheur. Chaque lot fut préparé de manière à présenter la même homogénéité.

Lot A. — 700 g. de tiges foliées de *Lathyrus niger* Bernh ont été séchés à l'air libre et en couche mince, en évitant toute contusion durant les manipulations. Dès le troisième jour, les plantes présentaient une teinte plus ou moins grisâtre, par suite de la plasmolyse qui avait mis en contact ferment et arbutoside. La dessiccation achevée, l'ensemble possédait une coloration uniformément noire, sans la moindre trace verte et pesait 160 g., soit 77,14 p. 100 d'humidité et de principes disparus. Par pulvérisation, nous avons préparé une poudre grisâtre, non comparable aux différents produits obtenus ultérieurement avec les plantes stabilisées. En épuisant le tout, à trois reprises différentes, par de l'alcool à 70°, nous avons pu remarquer que les liqueurs alcooliques

présentaient une teinte très foncée. Elles ont été réunies, filtrées, puis évaporées à siccité dans le vide, à une température inférieure à 40°. L'extrait sec résiduel fut repris par de l'eau distillée tiède, et amené finalement à un volume de solution correspondant au poids de la plante fraîche.

Nous avons effectué, sur cette colature, un essai biochimique à l'invertine et à l'émulsine dont les résultats sont relatés plus loin (*Tableau p. 233*).

Lot B. — Le deuxième lot de 750 g. fut porté avec précaution à l'étuve à 40°, dès la récolte.

Les plantes furent soigneusement étalées sur des claies, puis régulièrement retournées et changées d'étage dans l'appareil, afin de hâter la dessiccation. Celle-ci fut complète en deux jours. Elle nous a fourni finalement 190 g. de produit sec, soit une teneur en humidité de 74,66 p. 100. La poudre finale présentait des traces noirâtres, mais la teinte générale tirait sur le vert foncé. Nous avons effectué, sur ce deuxième lot, un essai biochimique dont les résultats figurent au tableau récapitulatif.

Lot C. — Nous avons stabilisé 250 g. de tiges feuillées en les immergeant, selon la méthode de BOURQUELOT, dans 1000 cm³ d'alcool à 90° bouillant. Après décantation des liqueurs, les feuilles furent divisées au hachoir universel, puis reprises identiquement par le même solvant. En épuisant ainsi le marc, trois fois de suite, nous avons obtenu finalement une colature vert clair qui fut filtrée, puis amenée à siccité dans le vide et à basse température. C'est sur la solution obtenue en reprenant l'extrait sec par de l'eau distillée tiède, dans des proportions calculées, que nous avons pratiqué l'essai biochimique (*Voir tableau p. 233*).

Lot D. — Le dernier lot de 250 g. fut soumis à l'action de la vapeur d'eau sous pression, dans le stérilisateur à double paroi, de SOREL. L'appareil se compose de deux cylindres, dont l'un, interne, est destiné à recevoir les ma-

tériaux à stériliser. Ce dernier possède en outre un dispositif spécial utilisé pour faire le vide dans l'appareil. L'avantage de cet autoclave est de permettre l'introduction rapide de la vapeur et la dessiccation ultérieure.

Les gesses étaient disposées dans de petits paniers en treillage métallique, placés horizontalement sur des supports.

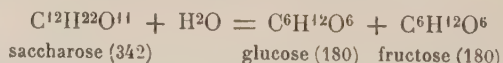
Après une stérilisation de cinq minutes à 105°, le vide fut effectué dans l'appareil et maintenu pendant dix minutes.

Le matériel fut retiré sec ou à peine humide, et desséché par un passage rapide à l'étuve à 40°. La stabilisation ainsi pratiquée, nous a laissé 60 g. de gesse noire restée d'un beau vert foncé : Soit un pourcentage de 76 g. d'humidité. Le tout a été traité, après pulvérisation et épuisement à l'alcool, par la méthode de BOURQUELOT, suivant l'essai biochimique classique.

Echantillon E. — Simultanément, nous avons conservé un témoin, soit 10 g. de tiges foliées coupées aux ciseaux et séchées à l'air. Très rapidement, les parties lésées de la plante se sont teintées en brun, puis en noir ; les fragments restés en parfait état ne se sont colorés qu'ultérieurement, après deux ou trois jours.

RÉSULTATS FOURNIS PAR LES 5 ESSAIS BIOCHIMIQUES.

D'après l'hydrolyse du saccharose par l'invertine, en fructose et en glucose, il est facile de calculer la proportion de sucre dédoublé en multipliant la quantité de produit réducteur formé par la constante 0,95. On sait, en effet, d'après l'équation de dédoublement du sucre de canne,



que 342 g. de ce dernier donnent lieu à la formation de 360 g. de sucre interverti.

Le coefficient de transformation est donc $\frac{342}{360} = 0,95$,

TABLEAU IX.

Résultats fournis pour 100 g. d'organes frais		Lot A	Lot B	Lot C	Lot D
Matières sèches pour cent		Plante séchée à l'air	Plante séchée à l'étuve (40°)	Plante stabilisée (alcool) (Méthode BOURQUELOT)	Plante stabilisée (eau) (Aubeclère SOREL)
		22,86	25,34		24
Déviation ($l = 2$)	{	— 7'	— 38'	— 1°34'	— 1°50'
	{	— 14'	— 52'	— 2°	— 2°22'
	{	+ 46'	+ 1°12'	+ 1°12'	+ 1°12'
Sucre réducteur (p. 100 cm ³)	{	0 g., 289	0 g., 336	0 g., 240	0 g., 207
	{	0 g., 358	0 g., 477	0 g., 507	0 g., 529
	{	0 g., 974	1 g., 754	2 g., 537	2 g., 792
Par l'invertine	{	7'	14'	26'	32'
	{	0 g., 069	0 g., 141	0 g., 267	0 g., 322
	{	591	605	616	604
Par l'émulsine	{	1°	2°4'	3°12'	3°34'
	{	0 g., 616	1 g., 277	2 g., 030	2 g., 263
	{	616	618	634	635
Saccharose		0 g., 065	0 g., 134	0 g., 253	0 g., 304
Arbutoside (calculé d'après le retour de la déviation).		0 g., 500	1 g., 030	1 g., 600	1 g., 780

Composition glucidique des tiges foliées de <i>Lathyrus niger</i> Bernh après dessiccation dans des conditions variées.				
Témoin Lot D....	{	Lot A perte de 78,28 p. 100 en saccharose et 71,91 p. 100 en arbutoside.		
	{	Lot B — 55,92 —	42,13	—
	{	Lot C — 16,77 —	10,11	—

Composition glucidique des différents lots (1).

Lot A. — (Plante séchée à l'air). La solution extractive initiale était fort peu lévogyre (— 7') et renfermait 0 g.,289 de produits réducteurs.

Sous l'action de l'invertine, il s'est produit un recul de la déviation vers la gauche de 7' avec formation de 0 g.,069 de sucres réducteurs. Le calcul donne un indice de 591, très voisin de celui du saccharose.

L'émulsine a provoqué un retour de la rotation vers la droite de 1°, avec apparition de 0 g.,616 de matières réductrices, soit un indice de 616.

En employant les facteurs établis précédemment, on voit que le lot A. contenait 0 g.,065 p. 100 de saccharose et 0 g.,500 p. 100 d'arbutoside.

Lot B. — (Plante séchée à l'étuve à 40°).

Les résultats sont ici fort différents de ceux de l'échantillon A. La solution initiale est nettement lévogyre (— 38') et renferme 0 g.,336 de produits réducteurs. L'hydrolyse par l'invertine est beaucoup plus marquée ; elle se traduit par un recul de la déviation polarimétrique de 14' vers la gauche, accompagné de la formation de 0 g.,141 de sucres réducteurs. L'indice est de 605, il coïncide avec celui du saccharose.

L'action de l'émulsine entraîne un retour vers la droite de 2°4' et une augmentation de 1 g.,277 dans les matières réductrices. L'indice de BOURQUELOT est de 618.

En admettant la présence du saccharose, que nous n'avons pas encore isolé, à l'état cristallisé, il faudrait compter, pour 100 g. de plantes fraîches, sur 0 g.,134 d'holoside et sur 1 g. 03 d'arbutoside.

Lot C. — (Plante stabilisée à l'alcool bouillant).

Ayant été stabilisé par la méthode classique de BOURQUELOT, ce lot correspond, dans notre étude générale, au deuxième essai biochimique du *Lathyrus niger*,

(1) Voir tableau p. 233.

La solution, fortement lévogyre à l'origine (— $1^{\circ} 34'$), et renfermant 0 g.,240 de produits réducteurs, a subi, sous l'influence de l'invertine, un recul de la déviation de $24'$ et une augmentation de 0 g.,267 dans les sucres réducteurs, soit un indice de 616, un peu plus élevé que celui du saccharose (603).

Sous l'action de l'émulsine, on enregistre une constante de 634, pour un retour de la rotation vers la droite de $3^{\circ} 12'$, avec production de 2 g.,03 de matières réductrices.

Dans cet essai, 100 g. de tiges foliées fraîches renferment donc 0 g.,253 de saccharose et 1 g.,60 d'arbutoside.

Lot D. — (Plante stabilisée à la vapeur d'eau sous pression).

C'est ce mode de stabilisation qui nous a fourni les résultats les plus intéressants.

L'extrait fluide initial est très fortement lévogyre (— $1^{\circ} 50'$), il se distingue des autres essais par sa plus faible teneur en produits réducteurs (0 g.,207).

L'invertine a provoqué un recul à gauche de $32'$, avec formation de 0 g.,322 de sucres réducteurs : Soit un indice de 604, identique à celui du saccharose.

L'émulsine a déterminé un retour à droite de $3^{\circ} 34'$, accompagné de l'apparition de 2 g.,263 de matières réductrices, ce qui donne un indice de 635.

Le lot D renferme donc 0 g.,304 p. 100 de saccharose et 1 g.,780 p. 100 d'arbutoside. Il contient par conséquent les plus fortes proportions de glucides.

Interprétation des résultats.

Effets de la stabilisation.

En considérant le tableau général, relatif aux quatre essais, nous constatons, tout d'abord, que les lots C et D ne présentent qu'une très légère différence. On pourrait, malgré tout, conclure, *à priori*, que les végétaux

stabilisés à l'autoclave de SOREL, conservent plus intégralement leurs principes glucidiques (saccharose, arbutoside), que ceux qui ont été traités par le procédé classique de BOURQUELOT. Comme nous l'avons déjà signalé, il ne faut cependant pas oublier que la plante fraîche renferme émulsine et invertine et que les manipulations peuvent amener en contact, glucides et ferments.

C'est, en particulier, ce qui s'est produit dans notre application de la méthode de BOURQUELOT.

Ne possédant pas, à cette époque, d'appareil spécial pour le traitement des plantes, nous avons stabilisé les gesses dans un ballon de 2 litres, ce qui a nécessité une division préalable, plus ou moins lente, des organes, avant le traitement à l'alcool bouillant. Depuis longtemps déjà, de nombreux auteurs ont montré que, quelle que soit la promptitude de l'opération, la section peut mettre en contact les différents principes et provoquer par suite des réactions fermentaires.

Nous avons pu contrôler ces phénomènes d'hydrolyse, dans le dosage des matières réductrices initiales par le réactif cupro-potassique.

Dans les solutions A et B, renfermant de l'hydroquinol ou ses produits de dégradation, l'addition de liqueur alcaline a provoqué une magnifique coloration jaune orangé, passant rapidement au violet rose. Avec la solution C., la teinte est restée très légèrement jaune. Quant à la liqueur D, elle est demeurée insensible à l'action des alcalis.

Si nous étudions maintenant le lot A, nous remarquons qu'il se produit une hydrolyse fermentaire prolongée, durant tout le temps que dure la dessiccation à la température ordinaire. Le saccharose est réduit à son minimum ; l'invertine nous donne d'ailleurs une indication fort nette à ce sujet, puisque son action se traduit par le dédoublement de 0 g.,065 de sucre. Il y a donc eu, pendant les manipulations, perte de 0 g.,238 de saccharose, soit 78,28 p. 100, si l'on prend comme base la teneur du lot D.

La plante, privée de son substratum, doit consommer activement ses réserves et cette utilisation est d'autant plus poussée, que l'hydrolyse fermentaire est favorisée par l'humidité des tissus ; on constate, en effet, que le lot B, placé dans des conditions particulièrement favorables à l'activité des ases, a conservé, malgré cela, une plus forte teneur glucidique. Les dégradations diastasi-ques semblent donc ralenties par la déshydratation des végétaux.

En ce qui concerne l'arbutoside du lot A, nous remarquons qu'il représente moins du tiers de l'hétéroside initial.

Le moment de l'hydrolyse est difficile à saisir. La plante prend bien, après deux ou trois jours, une teinte gris noirâtre, indice de l'oxydation de l'hydroquinol mais il est fort possible que ce phénomène chimique ne se produise qu'à la mort des tissus. On connaît, en effet, quelques cas où l'hydroquinol libre ne manifeste sa présence par aucun signe extérieur, et nous avons même émis à ce sujet l'hypothèse de l'action anti-oxygène des tanins. Selon CHODAT et ROUGE [176] on pourrait admettre également, une inhibition de l'activité potentielle oxydasique par une auto-régulation des tissus vivants.

Enfin, les résultats obtenus avec le lot A mettent en évidence un fait important :

Nous venons de voir qu'une forte proportion de l'arbutoside disparaît par hydrolyse, et que l'hydroquinol libéré s'élimine par oxydation. On peut se demander ce que deviennent, dans ce cas, le glucose de l'hétéroside et le sucre interverti du saccharose ?

Nous constatons leur disparition au cours de la période durant laquelle la plante continue à vivre et à utiliser les oses fournis par ses réserves. Il est donc probable que l'arbutoside sert d'aliment au végétal, toutefois, dans des conditions spéciales, comme nous devons le reconnaître.

Si l'on compare ces résultats aux essais des lots B, C et D, on remarque que la déviation finale $+ 1^{\circ} 12'$,

est identique et dextrogyre pour ces trois lots. Les produits réducteurs montrent, par contre, des différences considérables.

Dans ces conditions, il nous semble logique d'admettre que les trois derniers procédés de conservation tuent la plante plus ou moins rapidement, sans lui permettre d'utiliser les produits d'hydrolyse de ses osides.

Les ferments ayant été détruits, lentement dans le lot B, très rapidement dans le lot C, immédiatement dans le lot D, leur action se trouve, malgré tout, poursuivie au cours des essais biochimiques, de telle sorte que le résultat final est le même. On retrouve au point de vue polarimétrique, sous forme de sucre réducteur, tous les glucides ayant existé primitivement dans la gesse.

Par contre, les différences constatées pour les lots B, C et D dans les proportions finales des matières réductrices, proviennent de l'oxydation d'une partie plus ou moins grande de l'hydroquinol. Comme nous l'avons vu, ce produit réducteur est, en effet, inactif sur la lumière polarisée et n'intervient donc pas au point de vue optique.

CONCLUSIONS.

De tous ces résultats, nous pouvons dégager les conclusions suivantes :

Les moyens les plus efficaces que nous ayons utilisés pour assurer la conservation des glucides dans la gesse noire, sont : la technique de BOURQUELOT et la stabilisation dans l'appareil de SOREL. Au point de vue pratique et économique, le second procédé, chez des récoltants possédant de grands autoclaves, serait excellent.

Lorsqu'on ne dispose que d'un matériel très simple, la méthode de dessiccation à l'air libre, même exécutée d'une façon soignée, n'est qu'un pis aller. Il y a 71,91 p. 100 de l'hétéroside d'altéré, (1 g.,28 sur 1 g.,78) et 78,28 p. 100 de l'holoside,

En utilisant la chaleur sèche, à 40°, le procédé est bien préférable, car les deux tiers de l'arbutoside sont conservés. Il est fort possible qu'en élevant la température, on arriverait à un pourcentage beaucoup plus considérable. Nous n'avons pas vérifié cette hypothèse ; notre but principal étant de constater les actions diastasiques chez la gesse, nous avons donc été obligé d'opérer à une température assez basse pour conserver intacte l'intégrité fermentaire. Or, nous savons que l'arbutoside est suffisamment stable pour ne pas être hydrolysé de 70° à 100° ; les ases étant détruites à cette température, nous aurions obtenu, très probablement, une plus forte teneur en hétéroside et, par suite, un plus bel aspect des échantillons récoltés (pas de teinte noirâtre).

Nos essais montrent en outre, qu'un végétal, dont les tissus ne sont pas lésés, voit tous ses processus vitaux arrêtés par une déshydratation rapide, même s'il se trouve dans les meilleures conditions de température pour le développement des hydrolyses diastasiques.

Constatons enfin, que les tiges foliées de *Lathyrus niger* Bernh, stabilisées au mois de mai, constituent une excellente source d'arbutoside. On peut en effet, retirer, à cette époque, 18 g. d'hétéroside par kg. de plante fraîche.

*
**

En résumé, grâce à la méthode fermentaire, nous avons décelé la présence d'un glucide hydrolysable par l'émulsine dans les parties aériennes de la gesse noire. Ce principe n'existe pas dans les racines, mais semble, par contre, très abondant dans les fleurs.

Après avoir isolé une quantité appréciable de cet hétéroside, à l'état pur et cristallisé, nous l'avons identifié à l'*arbutoside*. Ce corps, étudié pour la première fois en 1853, par KAWALIER, est le glucoside β de l'hydroquinol.

Les racines de la gesse noire ne renferment pas trace

d'arbutoside. Par contre, elles contiennent de l'acide *glycyrrhizique* que nous avons réussi à extraire et à caractériser. Nous ignorons sous quelle forme cet acide existe dans le végétal.

La composition de la gesse noire est donc tout à fait différente de celle des autres *Lathyrus*, étudiés précédemment.

Nous avons utilisé la méthode biochimique pour suivre les variations subies, au cours de la végétation aérienne, par les glucides, en particulier par le saccharose et l'hétéroside isolé. Nos résultats portent sur sept essais, échelonnés du mois de mai au mois d'octobre.

Les différentes courbes obtenues semblent indiquer que les modifications annuelles de l'hétéroside sont opposées à celles des oses et de l'holoside.

Nos observations sont encore trop générales pour tirer des conclusions définitives, mais nous croyons qu'une étude biologique approfondie, surtout en ce qui concerne la composition des graines, permettrait peut-être d'éclaircir la fonction essentielle de l'arbutoside dans la plante.

Nous avons complété ces données, en recherchant l'origine de la mélanogenèse produite par la dessiccation des tiges foliées de la gesse noire. Nous avons montré que ce phénomène est imputable, non pas à la présence d'un chromogène, mais à l'hydrolyse de l'hétéroside et à l'oxydation ultérieure du diphenol libéré.

Enfin, nous avons indiqué les procédés permettant d'empêcher ce noircissement *post-mortem*, lequel est accompagné de la disparition des deux tiers de l'arbutoside.

CHAPITRE V.

I. — Recherches chimique et biochimique sur l'arbutoside.

1° Recherche chimique sur l'arbutoside.

PICTET et ses collaborateurs [324-325], puis KARRER [283], appliquant, dès 1920, la distillation sèche dans le vide à l'étude des glucides, ont montré que l'arbutoside donne, dans ce cas, de l'hydroquinol et de la lévoglucosane et que des hétérosides, comme le salicoside et le phlorisozide, fournissent également de la lévoglucosane.

TANRET, en 1894 [357], et VONGERICHTEN et MÜLLER [379], quelques années plus tard, avaient déjà obtenu ce corps en soumettant, à l'action de la baryte à 100°, divers hétérosides dont le picéoside, le salicoside et le coniféroside. Nous avons essayé de préparer, par ce dernier procédé, de la lévoglucosane en partant de l'arbutoside isolé de la gesse noire. Nous avons pu constater, au cours de ces expériences, que l'hétéroside était excessivement stable et que l'action de l'eau de baryte à 100°, pendant plusieurs jours, ne semblait pas modifier notre glucide.

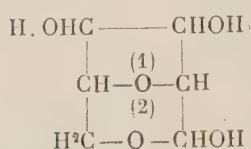
L'intérêt de ces recherches réside dans le fait que la décomposition de l'arbutoside par distillation sèche consiste dans un simple dédoublement



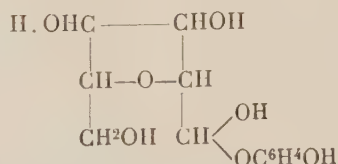
tandis que l'action des acides ou des ferments provoque forcément une hydrolyse.



D'après ces résultats, en donnant à la lévoglucosane la formule I, on aurait la formule II pour l'arbutoside.



I (lévoglucosane)



II (arbutoside)

Dans la décomposition par la chaleur, le radical phénolique se dégagerait avec l'H du groupe CH^2OH , ce qui entraînerait le rétablissement du noyau (2).

Dans le dédoublement des hétérosides par l'eau de baryte, il y aurait d'abord formation d'un hydrate peu stable, qui perdrait ensuite de l'eau pour engendrer la lévoglucosane (TANRET [357]).

Enfin, dans l'hydrolyse acide, cet hydrate subirait une seconde hydrolyse avec rupture du noyau (1) et formation de glucose. C'est probablement ce qui se produirait également, dans le dédoublement fermentaire. On expliquerait ainsi la présence permanente du glucose dans les hydrolyses diastasiques où n'apparaît jamais la lévoglucosane.

2° Etude comparative des actions fermentaires sur l'arbutoside.

Dans les essais biochimiques comparatifs entrepris sur la gesse noire, avec émulsine et rhamnodiastase, nous avons été quelques peu surpris en remarquant l'action lente de la poudre fermentaire de *Rhamnus* sur les liqueurs extractives.

En partant de l'arbutoside pur, nous avons étudié l'effet de ces mêmes ferments et de l'invertine.

Le tableau suivant résume les essais effectués sur une solution d'hétéroside à 1 p. 100 :

OBSERVATIONS.

	Déviatiôn ($l = 2$)	Sucré réducteur
Initiale	— 1°18'	0
Après action de l'invertine (1 p. 100)	1^{er} jour. — 1°12' 6^e jour. — 1°10' 60^e jour. — 1° 6'	0 g.,016 0 g.,039 0 g.,063
Après action de l'émulsine (0,5 p. 100)	1^{er} jour + 26' 6^e jour + 26' 210^e jour + 48'	1 g.,259 1 g.,259 1 g.,501
Après action de la rham- nodiaстase (0,10 p. 100)	1^{er} jour — 1°12' 2^e jour — 1° 6' 210^e jour — 30'	traces traces 0 g.,520

Que conclure de ces résultats ?

L'action de l'invertine semble à peu près nulle. On note cependant une très légère hydrolyse de l'arbutoside, perceptible après deux mois de contact fermentaire. Il faut, d'autre part, signaler la présence de diastases oxydantes accompagnant la sucrase ; nous avons en effet, remarqué, dès le premier jour de l'essai, que la solution primitivement incolore, était passée au rose brun, après quelques heures d'étuve.

La poudre de *Rhamnus* employée rapidement, selon la méthode habituelle, ne dédouble pas l'hétéroside. Par contre, en prolongeant six à sept mois le stage de la solution avec le ferment, on observe une hydrolyse marquée de l'arbutoside. Il semble qu'on puisse interpréter ce fait par la présence de traces de glucosidase β . L'action diastasique serait excessivement lente et demanderait des mois pour s'effectuer. Pratiquement, nos expériences montrent que, dans toutes les plantes renfermant de l'arbutoside, il est possible de déceler les hétérosides hydrolysables par la rhamnodiaстase, en réalisant, selon les indications de M. BRIDEL et C. CHARAUX, des essais ne dépassant pas quarante-huit heures.

II. — Observations sur la formation et les variations de l'arbutoside dans les plantes.

La méthode biochimique a permis d'isoler un si grand nombre d'hétérosides hydrolysables par l'émulsine, que ces corps, qui, jadis, ne semblaient jouer qu'un rôle secondaire dans la vie des plantes, apparaissent maintenant comme des produits très importants.

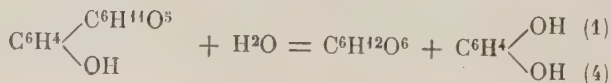
E. BOURQUELOT, qui les avait bien étudiés, estimait que leur présence tenait, comme celle du glucose et du saccharose, à des phénomènes nutritifs communs à tous les végétaux et qu'il y avait là, à résoudre, un problème physiologique du plus grand intérêt.

La présence d'un hétéroside : l'arbutoside, tributaire de l'émulsine, dans le *Lathyrus niger* Bernh, nous a incité à poursuivre cette étude, en comparant les résultats obtenus dans nos expériences, aux travaux publiés à ce sujet.

Nous rappellerons brièvement la composition de l'hétéroside, les diverses hypothèses émises sur l'origine de l'élément phénolique de sa molécule, enfin les recherches antérieures concernant son évolution et ses migrations dans les plantes.

Composition et toxicité de l'arbutoside.

Il résulte de l'étude biochimique de l'arbutoside, que ce corps est formé d'une molécule de glucose et d'une molécule d'hydroquinol. L'union se fait entre l'un des oxydrides phénoliques du noyau et l'une des fonctions alcools du sucre, avec élimination d'une molécule d'eau.



On trouve ainsi le noyau benzénique pourvu de deux fonctions phénoliques. Il est admis, en général, que ces fonctions sont nocives pour les végétaux quand elles sont libres. L'arbutoside paraît cependant faire exception à cette règle, car, en dehors de l'oxydrile lié au sucre, l'autre groupe phénolique n'est pas combiné et l'hétéroside et ses produits de dédoublement se trouvent fréquemment dans les plantes.

En fait, nous serions tenté de croire que l'hydroquinol produit par les tissus, est doué de propriétés différentes de l'hydroquinol très toxique, qu'on introduit parfois expérimentalement dans les végétaux.

Origine des composés phénoliques et des éléments hétérosidiques.

L'origine des composés phénoliques n'a pas encore été élucidée. Comme le signale GORIS [231-232], dans ses études sur les alcaloïdes et les hétérosides, quelques hypothèses fort intéressantes ont été émises :

WAAGE [381] fait dériver certains corps phénoliques des glucides et en particulier du glucose, d'après l'idée suivante :

La formation de l'amidon entraîne la soudure d'un certain nombre de molécules d'hexose perdant chacune, une molécule d'eau. La déshydratation du glucose pourrait encore aller plus loin et comporter, par exemple, la perte de trois molécules d'eau. Les molécules déshydratées, restant indépendantes les unes des autres, constitueraient le phloroglucinol ou son isomère, l'oxyhydroquinol :



CRATO [191] admet que la formation du phénol dépend surtout de la fonction chlorophyllienne. Rappelons à ce sujet, que, dans les racines d'orobe noir, nous n'avons pas trouvé d'arbutoside et que cet hétéroside est réparti exclusivement dans les tiges foliées et les fleurs.

Dès que le corps phénolique est constitué, on peut envisager, selon GORIS [231], dans la synthèse de l'hétéroside, un mécanisme analogue à celui signalé par CHARABOT et HÉBERT [162] chez les végétaux à essence ; il y aurait éthérification par union du noyau phénolique au sucre. Cette éthérification se fait facilement, comme l'ont montré les belles recherches de BOURQUELOT sur la réversibilité des actions fermentaires. Il s'établit un équilibre variable, les diastases scindant ou reconstituant l'hétéroside suivant les besoins de la plante.

Il n'a pas encore été possible, biochimiquement, de reproduire l'arbutoside ; mais, par utilisation du végétal lui-même, CIAMICIAN et RAVENNA [178], opérant avec de l'hydroquinol, ont réussi à obtenir de très faibles quantités d'hétéroside. Il est certain que, *in vivo*, la cellule vivante, par des procédés que nous ignorons actuellement, réalise cette synthèse.

Modification biologique et migration de l'arbutoside.

TRAVAUX ANTÉRIEURS.

Les recherches les plus importantes, concernant l'arbutoside, furent entreprises par BOURQUELOT et ses élèves, mais ce fut surtout WEEVERS qui dans ses études des migrations obtint les résultats les plus intéressants.

BOURQUELOT et Mlle A. FICHTENHOLZ [64] remarquèrent, dans une analyse très succincte que l'arbutoside contenu dans les feuilles de poirier de Louise-bonne et de poirier de Carisi se trouvait approximativement dans les mêmes proportions au début et à la fin de la végétation.

Voici ces chiffres :

Poirier de Carisi	{	2 juin	1,97	p. 100
		15 septembre	1,88	—
Poirier Louise-bonne...	{	14 mai.....	1,15	—
		2 novembre.....	1,24	—

Des recherches beaucoup plus approfondies furent poursuivies, à ce sujet, par WEEVERS [385], sur le *Vaccinium Vitis Idæa*, puis sur les *Pirus*.

L'auteur a étudié successivement, à différentes époques de la végétation et à diverses heures de la journée, les phénomènes de migration de l'hétéroside.

Ses travaux relatifs au *Vaccinium* sont délicats, même incertains, par suite du mélange de l'hétéroside au méthylarbutoside. On peut noter, malgré cela, que l'insolation provoque le développement de l'arbutoside et que, durant la période hivernale, l'augmentation de l'hétéroside est trop faible pour servir utilement au printemps, au moment de la croissance de la plante.

Les recherches relatives aux *Pirus* furent entreprises dès que fut connue la présence simultanée de l'hydroquinol libre et de l'arbutoside dans certains végétaux. Elles avaient pour but de vérifier l'hypothèse de PFEFFER, selon laquelle l'hétéroside, substance alimentaire, serait dans le cas de l'arbutoside, au point de vue physiologique, un « *glycogénique* » d'une structure particulière, c'est-à-dire un complexe dont une partie seulement deviendrait utilisable.

Pour PFEFFER [320], d'après GORIS [231] « *la combinaison des dérivés du benzène avec les glucides, servirait à la formation de substances difficilement diosmotiques, par conséquent, aptes à s'accumuler dans les cellules. Lors de la décomposition et de l'utilisation du glucose, le corps phénolique resterait intact pour servir plus tard à la formation d'une nouvelle quantité d'hétéroside. En un mot, la formation d'hétéroside aurait pour but de fixer le glucose sous une forme moins soluble et de donner des corps aplastiques* ».

Etude biologique de l'arbutoside du poirier.

La découverte de l'hydroquinol libre dans les bourgeons du poirier, par RIVIÈRE et BAILHACHE [341], incita WEEVERS à prendre les *Pirus* pour ses essais biologiques,

parce qu'ils ne renfermaient que de l'arbutoside et possédaient de grosses feuilles permettant l'étude des oscillations phénologiques journalières.

Nous n'insisterons pas sur les méthodes de dosages adoptées par l'auteur et nous arriverons de suite aux expériences consacrées successivement : à l'observation des migrations au cours de l'année, puis à leur étude au cours d'une même journée.

Contrairement aux résultats fournis par le *Vaccinium Vitis Idæa*, WEEVERS a toujours trouvé de l'hydroquinol libre dans la plante, en plus ou moins fortes quantités.

Tous les essais furent entrepris avec les mêmes exemplaires de la variété Louise-bonne d'Avranches, sur des extraits provenant de végétaux stabilisés à l'alcool. L'hétéroside se trouve localisé dans les bourgeons, les feuilles, l'écorce du tronc, le bois, et n'existe qu'à l'état de traces dans l'écorce des racines.

1° Migration au cours de l'année.

Nous avons résumé, dans le tableau suivant, les pourcentages trouvés par l'auteur dans les rameaux, les jeunes pousses et l'ensemble des deux organes :

Du mois de mars au mois d'avril, on constate une augmentation de 6 mg. d'hydroquinol et une diminution de 63 mg. d'arbutoside et de 65 mg. de glucose.

Du mois de mars au mois de mai, on note une augmentation de 15 mg. d'hydroquinol et une diminution de 85 mg. d'arbutoside.

WEEVERS admet, comme pour le *Vaccinium Vitis Idæa*, que l'arbutoside est employé durant la croissance. La quantité disparue du 30 mars au 2 mai est de 27 p. 100.

Enfin, du mois d'avril au mois de mai, on peut observer une augmentation de 9 mg. d'hydroquinol et une disparition de 22 mg. d'arbutoside.

	Arbutoside p. 100	Glucose (*) p. 100	Quantité absolue		
			Arbutoside en mg.	Hydroq. en mg.	Glucose en mg.
30 Mars, au printemps, au moment de la pousse des bourgeons. Rameaux à la croissance.					
a) frais 33 g., sec 14 g.,5..... (bois et écorce)	2,19	1,59	317	1	230
26 Avril, rameaux en pleine croissance.					
a) (bois et écorce), frais 31 g., sec 10 g.,5.....	1,96	0,83	206	2	87
b) 33 jeunes pousses fraîches, frais 14 g.,5, sec 3 g.,5.... (a + b) sec 14 g.	1,37	2,23	48 254	5 7	78 165
2 Mai, en pleine végétation.					
a) Rameaux (bois et écorce). frais 28 g., sec 10 g.,5....	0,88		92	8	
b) 30 jeunes pousses fraîches, sèche 3 g.,6..... (a + b) sec 14 g.	3,89		140 232	13 16	
18 Mai					
b) 30 jeunes pousses avec 155 feuilles			800	8	
(*) Glucose calculé après déduction du glucose provenant de l'arbutoside.					

2° Migration au cours de la journée.

WEEVERS a suivi ensuite les variations de l'arbutoside au cours de la journée, en employant la méthode suivante : Il prend une branche de poirier, et, après le coucher

du soleil, il enlève la moitié des feuilles en les coupant longitudinalement près de la nervure. Le lendemain, avant l'aurore, il sectionne la seconde moitié des feuilles en rejetant la nervure.

Toutes ces feuilles sont analysées dès leur récolte. Les résultats obtenus figurent au tableau ci-dessous :

Essai rapporté à 100 demi-feuilles.

	(Hydroquinol)	Arbutoside
1 ^{er} septembre 1908 (soir).....	1 mg.	287 mg.
2 septembre — (matin)	7 mg. (+ 6)	250 mg. (—37)
2 octobre — (soir)	2 $\frac{1}{2}$ mg.	281 mg.
3 octobre — (matin)	5 mg. (+ 3)	269 mg. (—12)
3 août 1909 (soir)	1 mg.	384 mg.
4 août — (matin).....	5 mg. (+ 4)	358 mg. (—26)
	<u>+13</u>	<u>—75</u>

D'après ces essais, l'arbutoside disparaît pendant la nuit et l'hydroquinol augmente. Ceci avait été déjà démontré pour le salicoside et le catéchol. Toutefois, l'augmentation de l'hydroquinol et la disparition de l'arbutoside ne correspondent pas aux proportions moléculaires d'hydrolyse diastasique 40/100. En réunissant les trois essais, l'augmentation de l'hydroquinol est de 13 mg. et la diminution de l'arbutoside de 75 mg. : soit un rapport de 17/100.

L'auteur estime que ces variations sont le fait d'un enzyme qu'il a d'ailleurs caractérisé. D'après lui, on ne peut pas dire que l'hydroquinol libéré reste complètement en réserve dans les feuilles pour reformer ultérieurement de l'arbutoside, grâce au glucose, mais il est possible qu'une partie de cette hydroquinol soit employée dans la croissance des tissus.

A l'appui de cette thèse, WEEVERS montre que la quantité d'hydroquinol libre augmente considérablement de 1 mg à 16 mg. Ce fait traduit le dédoublement de l'hétéroside dont le produit d'hydrolyse aromatique reste

en réserve et disparaît seulement quand l'assimilation commence pour les jeunes pousses, durant le mois de mai.

En comparant les quantités d'hydroquinol et d'arbutoside apparues et disparues pendant la croissance de la plante, sous l'action enzymatique, nous remarquons qu'on ne trouve pas l'hydroquinol prévu dans une hydrolyse complète de l'arbutoside manquant.

En comptant 85 mg. d'hétéroside disparu pour une formation de 15 mg. d'hydroquinol, le rapport est de 100/18, tandis que les proportions moléculaires fournies par l'hydrolyse diastasique sont de 100/40. Toutefois, en calculant seulement les variations comprises entre le 27 avril et le 2 mai, les résultats concordent mieux.

Pour une diminution de 22 mg. d'arbutoside, il se forme 9 mg. d'hydroquinol, soit un rapport de 100/41. On trouve par conséquent, dans ce cas, la quantité totale de phénol évalué théoriquement d'après l'hydrolyse de l'hétéroside non retrouvé.

WEEVERS soutient que la quantité d'hydroquinol est plus grande dans les jeunes pousses et qu'elle paraît provenir d'une hydrolyse locale de l'arbutoside, en admettant que ce dernier corps se déplace et ne reste pas fixé dans les tissus.

La quantité d'arbutoside pendant la croissance augmente fortement dans les jeunes pousses ; jusqu'au 18 mai, elle est plus considérable qu'au 27 avril dans les rameaux, (bois et écorce réunis).

L'auteur admet que ce doit être de l'arbutoside nouvellement formé, car il ne peut venir que des parties avoisinantes et non des parties éloignées du poirier. L'arbre en effet, ne renferme que des traces d'hétéroside, dans l'écorce de racine.

Ainsi, chaque tige a, personnellement, ses propres bourgeons, qui, à ce point de vue, au moment de la croissance, servent de matières de réserve aux rameaux et utilisent le glucide pour leur développement.

Conclusions de WEEVERS.

Elles sont, ici, beaucoup moins affirmatives que pour l'étude du salicoside. L'hétéroside joue, dans tous les cas, le rôle d'une substance de réserve. Formé dans les feuilles et dans l'écorce, il s'accumule surtout dans le bois des rameaux. Au moment de la croissance, au printemps, le glucide est dédoublé sous l'action d'un agent fermentaire, d'une part, en glucose, et d'autre part, en hydroquinol. Ce dernier, au début, reste totalement en réserve et l'augmentation de son poids peut se retrouver pondéralement dans la disparition de l'arbutoside.

Dès le commencement de l'assimilation, l'hydroquinol diminue, l'arbutoside augmente ; le diphénol semble donc utilisé pour former avec le glucose circulant de nouvelles réserves d'hétéroside. Enfin, une autre partie d'hydroquinol serait transformée en diverses substances, notamment en dérivés colorés, par une oxydation plus intense. En fait, d'après WEEVERS, l'hétéroside ne serait alimenté que par sa partie glucidique.

Hypothèse de GORIS.

GORIS ne partage pas l'opinion de WEEVERS. D'après lui, il serait plus rationnel d'admettre « *que le glucose s'unit au phénol, produit nuisible pour la plante, afin de le transformer en un principe inoffensif, mobilisable. L'hétéroside se rendant vers l'écorce s'y décomposerait, le glucose reprendrait son rôle et le composé phénolique oxydé donnerait alors les matières colorantes de l'écorce* ».

Cette hypothèse peut très bien, selon GORIS, s'accorder avec les résultats de WEEVERS. Ce ne serait plus le phénol qui fixerait le glucose, en vue d'en faire une substance de réserve, mais le glucose qui solubiliserait le phénol, et l'entraînerait dans un lieu où il ne pourrait plus nuire à la plante.

Devant ces opinions, assez contradictoires, nous avons été amené à envisager succinctement les théories actuelles sur le rôle des hétérosides dans les végétaux, en y joignant, à l'occasion, pour l'arbutoside, quelques remarques personnelles.

Les différentes conceptions sur le rôle des hétérosides et plus particulièrement de l'arbutoside.

Dans la plupart des hypothèses émises sur le rôle des hétérosides, on a surtout considéré l'idée finaliste, c'est à-dire le but physiologique de l'hétéroside. On a donc attribué à ces corps différents rôles : protection, réserve, ou déchet.

L'idée de protection a été abandonnée de bonne heure, tout en admettant, comme l'a fait remarquer GORIS, que les hétérosides peuvent, dans des circonstances occasionnelles, protéger la plante contre les parasites.

Le rôle de substance alimentaire semblerait mieux convenir à certains hétérosides. Les nombreux partisans de cette théorie font observer qu'on trouve généralement ces corps dans les régions où l'activité cellulaire est la plus grande et que, d'autre part, les hétérosides subissent des migrations au cours de la végétation.

Est-il possible de mettre en évidence l'utilisation de ces principes par les plantes ?

Opérant, *in vitro*, PURIEWITSCH [329] a remarqué, en suivant le développement de l'*Aspergillus niger*, du *Penicillium glaucum* et de l'*Aspergillus glaucus* sur des solutions d'hétérosides et en particulier d'arbutoside, que ces corps possédaient une certaine valeur nutritive, en relation avec leur poids moléculaire et par suite avec la quantité de glucose formé.

BRUNSTEIN [156] ne partage pas complètement cette opinion :

Etudiant spécialement l'arbutoside, il a montré qu'on devait le considérer comme un mauvais aliment dont le

produit phénolique de dédoublement est nocif et peut même empêcher l'utilisation du glucose par les champignons.

La partie non glucidique de la molécule : l'hydroquinol, ne serait jamais utilisé (BRÜNSTEIN) ou, en tous cas, très lentement (PURIEWITSCH).

Tel n'est pas, cependant, l'avis de H. HÉRISSEY [266] Selon lui, dans les végétaux, les hétérosides à composants toxiques subissent des dédoublements absolument différents de ceux que nous pouvons produire, *in vitro* ; les nouveaux corps formés sont susceptibles d'être utilisés sans dommage pour la plante qui les a élaborés.

Nous citerons à l'appui de cette thèse, comme exemple de transmutation des produits osidiques, la disparition du tréhalose dans les champignons et son remplacement par la mannite. On peut noter également l'absence de mannose et de galactose dans les tubercules d'orchidées et dans les graines à albumen corné, à la suite de la digestion, par la séminase, des galactanes et des mannanes contenues dans ces végétaux (HÉRISSEY [258]).

Ces idées sont très plausibles lorsqu'on connaît le chimisme des plantes qui, sans produits intermédiaires, passent des sucres élaborés par les feuilles, aux polyholsides mis en réserve dans les graines, les racines ou les rhizomes.. Comme l'a fait remarquer H. COLIN, on n'a pas encore découvert, dans le grain de blé ou le tubercule de pomme de terre, le maltose et les dextroses qui sont à mi-chemin du glucose et de l'amidon, pas plus qu'il n'a été possible de montrer la transformation, qui est pourtant manifeste, de l'amidon en saccharose.

Tous ces faits ne sont pas de nature à éclairer nos recherches, et l'on peut se demander enfin, s'il faut considérer l'arbutoside comme une substance de réserve ou comme un produit de déchet ?

Est-il possible de montrer, *in vitro*, l'utilisation ou l'élimination de l'hétéroside par le végétal ?

Il semble, *à priori*, qu'une des meilleures méthodes permettant d'observer ces phénomènes, consiste à sui-

vre les migrations et les variations des corps à étudier.

C'est le procédé de BOURQUELOT que nous avons choisi, durant tout ce travail, imitant en cela de nombreux biochimistes, tels que VINTILESCO, BRIDEL, RABATÉ, CHEYMOL, etc...

VINTILESCO [373], suit le syringoside dans les organes des lilas et des troènes et remarque que ce glucide, existant l'hiver dans les feuilles, tend à disparaître au moment de la reprise de la végétation.

Dans la maturation des olives, BOURQUELOT et VINTILESCO [83], signalent des faits analogues pour l'oleuropéoside.

Bien plus tard, RABATÉ [332] observe une modification similaire du picéoside de l'amélanchier.

Il semble, d'après ces constatations, que l'hétéroside ne devrait pas être considéré comme un déchet de l'activité cellulaire, mais plutôt comme une matière de réserve.

Par contre, BRIDEL [94], étudiant le ményanthe et la gentiane, apporte des résultats différents ; d'après lui, la quantité moyenne d'hétéroside varie peu, tandis que l'on remarque de grandes variations dans les proportions des sucres, suivant l'époque de la végétation.

Bien qu'il ait toujours considéré la plupart des hétérosides comme des substances de réserve, l'auteur hésite, à ranger dans cette classe, le méliatoside et le gentiopicroside. Quelle peut être alors l'utilité de ces produits pour la plante qui les élabore ?

Dans nos recherches, les faits que nous avons eu l'occasion de remarquer, nous semblent digne d'être signalés. La courbe des variations de l'arbutoside de la gesse noire, montre indiscutablement des relations curieuses avec les courbes voisines du sucre réducteur initial et des autres holosides (voir p. 217).

En ce qui concerne les différentes théories sur le rôle des hétérosides, nous estimons que, dans le cas du *Lathyrus niger* Bernh, qui ne renferme pas d'hétéroside ni d'hydroquinol dans ses racines, l'hypothèse de GORIS ne peut s'admettre que d'une seule façon.

Le glucose étant le convoyeur du phénol, le transport ne se manifestera que vers les fleurs, puisque c'est dans ces organes que nous trouvons d'ailleurs la plus grande proportion d'arbutoside. Il faut se rappeler également que c'est après la floraison que nous assistons à la régression de l'hétéroside.

Une remarque de R. COMBES [189] nous a frappé à ce sujet. Suivant l'auteur, dans des conditions biologiques déterminées, au moment de la création des pigments anthocyaniques, le chimisme cellulaire aboutit à la formation de composés phénoliques incolores ou faiblement teintés, qui ne prennent, par conséquent, aucune part à la coloration des tissus dans lesquels ils sont localisés. Si, dans ces tissus, des composés sucrés solubles s'accumulent en quantité notable, les processus d'oxydation deviennent plus actifs et les phénomènes de synthèse, qui ont lieu dans ces régions, aboutissent à la formation de composés phénoliques un peu différents de ceux qui se constituent dans les conditions précédentes. Ces produits phénoliques présentent, entre autres caractères, une vive coloration rouge, violette ou bleue.

Ne pourrions-nous pas entrevoir, dans la gesse noire, une relation possible entre l'accumulation de l'arbutoside dans les fleurs et la formation des anthocyanes ? Ces organes ont en effet, une teinte caractéristique passant du rouge violacé au bleu.

Un fait reste encore inexplicable. L'hydroquinol, considéré comme produit de déchet, doit s'oxyder rapidement lorsqu'il émigre vers les parties externes de la plante. Or, ce n'est pas le cas chez le *Lathyrus niger* Bernh. Exception faite de la gousse, qui noircit à la longue, on ne constate jamais, sauf à l'arrière-saison, la mélanogenèse des organes végétatifs. On ne peut expliquer cette anomalie que par l'absence d'hydroquinol ou par l'abondance des matières tanniques rencontrées toujours avec l'arbutoside. De récentes recherches ont montré, en effet, l'action anti-oxygène du tanin. Les composés phénoliques sont, eux-mêmes, des anti-oxygène puissants

et, en s'oxydant, certains donnent des colorations caractéristiques, si manifestes qu'on a pu choisir, dans la recherche des oxydases, le gaïacol par exemple, comme test d'oxydabilité. Ces idées reposent sur les faits suivants :

Quand, dans un milieu de culture fournissant un ferment catalyseur, on ajoute une trace de gaïacol ou de para-crésol, il se produit rapidement, en quelques heures, une coloration type.

Si l'on recommence l'opération en présence de tanin, il faut beaucoup plus longtemps pour obtenir la réaction, mais le tanin brunit ; c'est lui qui s'oxyde et, tant qu'il y a du tanin non oxydé, les phénols sont protégés de l'oxydation.

Le tanin est donc, d'après LUTZ et suivant l'hypothèse de MOUREU, un anti-oxygène tellement puissant qu'il se conduit comme anti-oxygène à l'égard de composés qui le sont déjà par eux-mêmes.

C'est l'une des explications que nous puissions donner de la non coloration de l'hydroquinol au sein des cellules végétales. A la mort de la plante, la plasmolyse générale qui s'ensuit, provoque de telles oxydations que le rôle modérateur du tanin est rapidement annihilé et ne se fait plus sentir.

On pourrait néanmoins admettre, si l'on observe que la quantité d'arbutoside croît sans cesse jusqu'à la floraison, que ce corps est surtout utile à ce moment pour la plante. Nous retrouvons là, d'une façon détournée, il est vrai, l'idée de A. GORIS, du transport vers les parties les plus externes de ces résidus hétérosidiques qui s'oxydent après dédoublement. Peut-être, pour revenir à l'une de nos hypothèses, certains pigments anthocyaniques chez la gesse noire n'ont-ils pas d'autre origine !

« Sous l'influence d'une lumière intense, du froid, d'un traumatisme (peut-être de la floraison), il y a un déséquilibre cellulaire, l'hétéroside est hydrolysé, le composé à noyau phénolique mis en liberté s'oxyde et donne des substances colorées caractéristiques. »

Le glucose provenant de la décomposition de ces glucides peut alors rentrer dans le cycle de la nutrition. Toutefois, on ne peut voir là un rôle de substance de réserve proprement dit, mais seulement le fait d'une utilisation secondaire, consécutive à l'élimination de la substance conjuguée ».

Nous nous trouvons absolument d'accord avec A. GORIS sur cette utilisation secondaire du glucose ; nous l'avons constaté, d'une façon certaine au cours de notre étude sur la dessiccation des orobes dans des conditions variées.

Quelle que soit l'origine du dédoublement de l'arbutoside, l'hexose libéré semble reprendre son rôle normal dans le végétal.

En fait, les études sur l'arbutoside confirment-elles l'hypothèse de l' « *hétéroside-réserve* » ou celle de l' « *hétéroside-déchet* » ?

Si nous envisageons la question dans son ensemble, d'une part, nous voyons les partisans de l'hétéroside, forme de déchet de l'activité cellulaire, défendre leurs idées avec beaucoup de logique.

D'autre part, sans être complètement opposés à cette théorie, d'autres savants, s'appuyant sur les expériences de H. HÉRISSEY et de L. GUIGNARD [248], pensent que de tels résultats cadrent peu avec l'hypothèse de l' « *hétéroside-déchet* ».

Il faut donc se garder de généraliser, même en considérant certains glucides comme des substances inutiles. On doit tenir plusieurs de ces principes comme des aliments de réserve.

GUILLAUME [250] a fait remarquer judicieusement, pour les alcaloïdes, que les deux grandes théories sur les substances de déchet et sur les substances nutritives n'étaient réellement en opposition que sur la valeur des mots, pratiquement, dit-il, les partisans des deux thèses sont actuellement d'accord.

Il nous est facile d'appliquer de même ces idées aux hétérosides. En effet, selon GORIS « *le mot déchet em-*

ployé en physiologie peut-être compris de diverses façons : c'est la substance devenue inutilisable et ne présentant plus aucun profit pour l'organisme qui l'a produite ou bien c'est la substance éliminée d'un cycle de réactions, mais qui peut rentrer dans un cycle de réactions nouvelles sans pour cela quitter l'organisme.

Le fait que le glucose est libéré dans l'hydrolyse de l'hétéroside, n'a donc rien que de très naturel. Nous y voyons un fait secondaire, un aliment occasionnel. Nous ne nions donc pas l'utilisation de l'ose de l'hétéroside, et cela nous rapproche des partisans de l'« hétéroside-aliment », mais nous ne lui attribuons pas la même importance ».

Nous sommes persuadé que seule, l'accumulation des expériences mettra un terme à ces discussions, actuellement sans issues. Nous ne nous permettrons donc pas, à la suite des recherches très générales que nous avons entreprises, de tirer la conclusion d'un sujet aussi délicat ; nous nous rapprochons ainsi de l'opinion de COMBES [190] qui, s'affranchissant de toute idée finaliste, envisage l'étude des hétérosides, non plus en vue de savoir le but physiologique de ces produits, mais uniquement pour connaître les résultats des phénomènes physico-chimiques ayant lieu à l'intérieur des tissus :

« Il ne convient pas, dit-il, de se donner comme but de trouver pourquoi les substances apparaissent, pourquoi elles sont localisées dans tel territoire de la cellule, pourquoi elles disparaissent, mais il faut chercher à savoir comment elles apparaissent, comment elles interviennent dans la vie de la cellule, enfin comment elles se transforment et disparaissent ».

Nous nous contenterons, par suite, simplement de résumer le résultat de nos observations, corroborant les travaux déjà faits sur l'arbutoside, en nous plaçant surtout au point de vue chimique.

L'hétéroside disparaît des tissus en deux phases :

Dans la première, le dédoublement a lieu par l'intermédiaire de diastases que nous avons d'ailleurs identifiées, dans le végétal.

Dans la seconde, on assiste à la disparition des produits d'hydrolyse : glucose et hydroquinol.

Le glucose sera utilisé directement ou donnera naissance en partie aux divers glucides des tissus.

En ce qui concerne la partie non glucidique, WEEVERS a constaté qu'une portion de l'hydroquinol, provenant de l'hydrolyse de l'arbutoside, disparaît. CIAMICIAN et RAVENNA [178], inoculant expérimentalement l'hétéroside dans des végétaux, ont remarqué, après plusieurs jours d'observation, qu'on retrouvait une partie du produit intact et une autre partie dédoublée.

Personnellement, nous ignorons, de ce côté, ce qui se passe. Le problème est d'autant plus complexe que l'hydroquinol libre est très toxique, comme l'ont montré les expériences faites par inoculation ou par absorption souterraine. Toutefois, COMBES, dans ses recherches, se rapproche des idées de HÉRISSEY, en faisant remarquer « qu'un grand nombre de substances : tanins, alcaloïdes, hétérosides, introduits artificiellement dans les plantes, se montrent quelquefois très toxiques et n'y produisent par contre aucun désordre lorsqu'ils s'y accumulent parfois en proportion considérable dans les conditions de vie normale ». Il y a là un des secrets de la nature qui reste encore impénétrable.

Nous n'avons pas caractérisé l'hydroquinol à l'état libre dans la gesse noire, mais plusieurs auteurs l'ont trouvé dans différents végétaux à côté de l'arbutoside. WEEVERS, au cours de recherches sur le *Vaccinium Vitis Idæa* et le *Pirus communis*, a montré que c'est par suite d'une décomposition, que l'hétéroside voisine avec le diphénol. Dans les jeunes pousses qui se développent au début de la végétation, l'hydroquinol augmente, tandis que l'arbutoside diminue.

La fonction de l'hétéroside paraît surtout importante durant la période qui s'étend du début de la végétation à la floraison. Ainsi, jusqu'à la fructification, synthèse et condensation chimiques prédominent : l'arbutoside augmente.

Au cours de la formation des graines, il se produit, au contraire, un régime de simplification moléculaire ; les glucides se désagrègent pour émigrer sous des formes solubles vers les fruits où ils se condensent. Il serait par suite très intéressant de rechercher la présence de l'arbutoside dans les graines.

On sait qu'un grand nombre de graines renferment des proportions notables d'hétérosides. Or, L. GURGARD [248] a mis en évidence, durant la germination à l'obscurité du *Phaseolus lunatus*, qu'un tiers de l'hétéroside initial était disparu au bout d'un mois. Cette observation cadre mal avec l'hypothèse de l'« *hétéroside-déchet* ».

Nous sommes persuadé que c'est dans cette voie expérimentale qu'on trouvera de véritables indications sur la fonction principale de l'arbutoside, dans le *Lathyrus niger* Bernh.

*
**

En résumé, il ressort de l'étude fermentaire de l'arbutoside que la présence de cet hétéroside, très peu sensible à l'action de la poudre de *Rhamnus*, ne saurait contrarier les essais biochimiques pour la recherche des autres glucides par la rhamnodiastase.

La comparaison de nos résultats avec les travaux antérieurs montre que l'arbutoside n'existe qu'à de rares exceptions dans les racines, ce qui laisse entrevoir une relation probable entre ce principe et la fonction chlorophyllienne.

Nous avons constaté enfin, que l'hétéroside de la gesse noire constitue, après hydrolyse, et dans certaines circonstances, une source de glucose utilisé par les tissus.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Les différents chapitres de ce travail se terminant par des résumés détaillés, nous nous contenterons de formuler quelques conclusions d'ensemble, au sujet de la composition et des variations glucidiques observées chez quelques espèces indigènes du genre *Lathyrus* (Papilionacées).

1° Les résultats fournis par l'application des procédés biochimiques au *Lathyrus tuberosus* L. et au *Lathyrus silvestris* L. montrent la présence, dans les organes de réserve de ces deux espèces, du *glucose*, du *saccharose* et de l'*amidon*. Ces glucides sont accompagnés d'*asparagine*.

Il existe, d'autre part, dans les tubercules de la gesse tubéreuse, une petite quantité de *maltose*. Il est fort probable que les racines de la gesse sauvage en contiennent également. La découverte de ce sucre est intéressante à signaler, car elle porte à quatre le nombre des plantes dans lesquelles cet holoside a été signalé : *Mercurialis perennis* L. (GILLOT [221-222]), *Umbilicus pendulinus* D. C. (BRIDEL [110]), *Bolbostemma paniculatum* Franquet (COLIN et FRANQUET [186]), *Lathyrus tuberosus* L. (MEUNIER [304]).

Personnellement, nous sommes certain, que ce sucre est plus répandu, qu'on ne le pense, dans le règne végétal ; c'est faute d'une méthode convenable qu'il est demeuré très longtemps inaperçu ou qu'il n'a pas été isolé.

On peut remarquer, en effet, que, parmi les trois plantes d'où le maltose a été extrait antérieurement, deux d'entre elles, l'*Umbilicus* et le *Bolbostemma* en contenaient de fortes proportions, comparativement à celles des autres sucres, ce qui en a rendu l'isolement facile. Au contraire, son extraction est particulièrement difficile lorsqu'il se trouve en faible quantité, en présence d'autres glucides. P. GILLOT n'a pu l'obtenir du *Mercurialis perennis* L. qu'après bien des tentatives et, en ce qui nous concerne, nous nous sommes heurté aux mêmes compli-

cations pour le *Lathyrus tuberosus* et pour le *Lathyrus silvestris*.

Les graines de ces deux espèces de gesse sont très riches en *stachyose*, tétraholoside cristallisable. Ce glucide, d'après les recherches de FRANQUET sur le haricot, n'existe pas dans les graines jeunes et n'apparaît que tardivement, à l'approche de la maturité. Il s'agirait d'une réserve indépendante, qui n'aurait pas de rapport avec l'amylogénèse.

2° En suivant les variations glucidiques chez la gesse tubéreuse, nous avons constaté d'importantes modifications de ces principes au cours de la végétation annuelle.

Les oscillations du saccharose et de l'amidon confirment les données déjà acquises sur l'évolution de ces glucides, chez les plantes vivaces. *Le sucre de canne se forme aux dépens des matières amy lacées.*

Le maltose persiste durant tout le cycle végétatif et ses variations correspondent sensiblement aux variations amy lifères. Il semble que l'on puisse considérer le maltose, avec P. GILLOT, comme un véritable principe de réserve et non comme une formation transitoire.

R. FRANQUET est cependant beaucoup moins affirmatif et se demande si l'on doit tenir ce sucre comme le terme obligatoire de la condensation des hexoses en amidon ou comme une réserve indépendante de la matière amy lacée.

Nos recherches ne nous ont pas permis de déceler la présence du maltose dans les tiges et dans les feuilles ; nous ne l'avons trouvé que dans les tubercules.

3° Notre étude générale des divers *Lathyrus* a mis en évidence chez un certain nombre d'espèces indigènes, la présence d'holosides et d'hétérosides dont l'extraction est susceptible d'être tentée.

4° La gesse noire élabore un hétéroside : l'*arbutoside*, qui n'avait pas encore été signalé dans la famille des Légumineuses.

Ce principe est *localisé dans les tiges foliées et les fleurs.*

Les racines, dont la composition osidique semble assez

complexe, tout en *ne renfermant pas d'arbutoside*, sont riches en *acide glycyrrhizique*, qui y existe sous une forme encore indéterminée.

L'arbutoside est très sensible à l'action fermentaire de la glucosidase β . Son hydrolyse provoque, chez la plante, le phénomène de la mélanogenèse, qu'il est possible d'empêcher par la stabilisation ou par la dessiccation rapide. Cette dernière est absolument nécessaire si l'on veut conserver intégralement les principes actifs du végétal. Le simple séchage à l'air libre entraîne la disparition des deux tiers de l'hétéroside.

Il est intéressant de signaler que, parmi les gesses étudiées, seules, deux espèces voisines, le *Lathyrus macrorizus* Wimm. (= *Orobis tuberosus* L.) et le *Lathyrus niger* Bernh. (= *Orobis niger* L.) présentent une mélanogenèse intense à la dessiccation.

Le phénomène s'effectue pour chaque espèce selon des processus différents. La première possède un chromogène, l'orobérol, directement oxydable. La seconde renferme un hétéroside, l'arbutoside, dont l'hydrolyse préalable libère un diphenol, l'hydroquinol. C'est ce dernier qui, par oxydation, provoque la coloration observée.

5° Nos observations et les différentes recherches sur l'arbutoside montrent que cet hétéroside, dont la répartition est actuellement limitée aux quatre familles suivantes : Protéacées, Ericacées, Rosacées, Légumineuses, se comporte dans les végétaux comme un complexe assez spécialisé.

Plus particulièrement localisé dans les parties foliées, il est hydrolysé très rapidement par l'émulsine et plus lentement par la rhamnodiastase.

Les modifications glucidiques qui se produisent pendant la période de vie aérienne du *Lathyrus niger* semblent, en raison de leur importance, devoir apporter quelques éclaircissements sur la genèse et les transformations encore inexpliquées de l'arbutoside. La gesse noire nous paraît en effet, se prêter admirablement pour une étude approfondie du rôle physiologique de cet hétéroside chez les végétaux.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

Cette bibliographie n'a pas la prétention d'être complète. Nous espérons néanmoins, qu'elle permettra de se documenter sur de nombreux ouvrages ayant trait à la Chimie végétale et plus particulièrement sur les recherches touchant aux méthodes biochimiques.

(Les numéros inscrits dans la colonne de gauche sont placés, dans le texte, entre parenthèses, à côté des auteurs cités).

1. ARNOULD (R.). — Application du procédé biochimique de caractérisation du glucose aux fruits de *Viburnum Opulus* L., à l'extrait de quinquina rouge et à des extraits de cola. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, **3**, 547.
2. AUGEM (A.). — Les glucides des Iris (Nature, genèse et transformations), *Rev. Gén. Bot.*, 1928, **40**, 456.
3. BARFØED. — *Organische Analyse*, 214, cité d'après BOURQUELOT et HÉRISSEY [69].
4. BÉGUIN (C.). — Les méthodes biochimiques de recherche des glucosides et des sucres. Application de la méthode à la rhamnodiastase au *Polygonatum Cuspidat.* Sieb et Zucc. Obtention d'un glucoside nouveau, le polydatoside. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.) Paris*, 1925-26.
5. BEHRENS (H.). — *Anleitung zur mihl analyse*. 4^e fascicule, 69.
6. BERNAYS. — Ueber einen neuen kristallisirbaren Pflanzenstoff das Syringin aus des *Syringa vulgaris*. *Rép. für die Pharm. (Buchner)* II. 1841, **24**, 348.

7. BERTHELOT. — Sur la fermentation glucosique du sucre de canne. *C. R. Ac. Sc.*, 1860, **50**, 980.
8. BERTRAND (G.). — Sur les rapports qui existent entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase. *C. R. Ac. Sc.*, 1896. (1) **122**, 1132-1134, *Bull. Soc. Chim.*, 1896, (3), **15**, 791-793.
9. BERTRAND (G.). — Sur la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons. *C. R. Ac. Sc.*, 1896, (2), **123**, 463-465.
10. BERTRAND (G.). — Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase. *Bull. Soc. Chim.*, 1897, (3), **17**, 623.
11. BERTRAND (G.). — Sur l'extraction du bolétole. *C. R. Ac. Sc.*, 1902 (1) **134**, 124-126.
12. BERTRAND (G.). — Sur le bleuissement de certains champignons du genre *Boletus*. *Bull. Soc. Chim.*, 1902, (3), **27**, 451-459.
13. BERTRAND (G.). — Le dosage des sucres réducteurs. Méthode de MOHR (*Zeitschrift f. anal. Chem.*, 1873, **12**, 296-299) mise au point. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1907, **14**, 7. *Bull. Soc. Chim.*, 1906, **35**, 1285. *
14. BERTRAND (G.). — La vicianine, nouveau glucoside cyanhydrique contenu dans les graines de vesce. *C. R. Ac. Sc.*, 1906, **143**, 832-834 et 970. *Bull. Soc. Chim.*, 1907, **1**, 151-154. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1907, **14**, 65-68.
- 14 a. BERTRAND (G.). — Action de la tyrosinase sur divers corps voisins de la tyrosine. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1908, **15**, 65.
15. BERTRAND (G.). — Propositions relatives à la nomenclature des glucides. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, **9**, 854.
16. BERTRAND (G.) et COMPTON (A.). — Action de la chaleur sur l'émulsine. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **152**, 1518. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1912, **26**, 161.

17. BERTRAND (G.) et DJORITCH (Mlle Y.). — Sur un nouveau chromogène cristallisé, l'esculétol, retiré du marronnier d'Inde. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **178**, 1233-1236.
18. BERTRAND (G.) et HOLDERER (M.). — La cellulase et le déboulement diastasique du cellose. *C. R. Ac. Sc.* 1909, **149**, 1385.
19. BERTRAND (G.) et HOLDERER (M.). — Recherches sur la cellulase, nouvelle diastase déboulant le cellose. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, **150**, 230. *Ann. Inst. Pasteur*, 1910, **24**, 180.
20. BERTRAND (G.) et RIVKIND (Mlle L.). — Recherche sur la répartition de la vicianine et de sa diastase dans les graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Chim.*, 1907, (4), **1**, 497-501.
21. BERTRAND (G.) et THOMAS (P.). — *Guide pour les manipulations de Chimie biologique*. Paris, Dunod, 2^e éd.
22. BERTRAND (G.) et WEISWEILLER (G.). — Sur la constitution du vicianose et de la vicianine. *C. R. Ac. Sc.*, 1908, **147**, 252 et 1910, (2), **151**, 884-886.
23. BERTRAND (G.) et WEISWEILLER (G.). — Recherches sur la constitution du vicianose ; hydrolyse diastasique. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, (2) **151**, 325-327. *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), **9**, 84-86.
24. BERTRAND (G.) et WEISWEILLER (G.). — Le vicianose, nouveau sucre réducteur en C¹¹. *Bull. Soc. Chim.*, 1911, (4), **9**, 38.
25. BIERRY (H.). — Recherches sur les diastases qui concourent à la digestion des hydrates de carbone. *Thèse Doct. ès-Sc. Nat.*, Paris, 1910-11.
26. BONNIER (G.). — *Flore complète de France, Suisse et Belgique.*, **3**, Paris, E. Orlhac, 70-77.
27. BOUGAULT (J.). — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1917, (7), **16**, 97.

- 27 a.** BOUGAULT (J.) et HÉRISSEY (H.). — Notice sur la vie et les travaux de Emile BOURQUELOT (1851-1921). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1921, (7), **24**, 403-464.
- 28.** BOURDIER (L.). — Sur la présence de l'aucubine dans les différentes espèces du genre *Plantago*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6), **26**, 194 et 254.
- 29.** BOURDIER (L.). — Recherche biochimique des glucosides dans le plantain (aucubine) et dans la verveine (verbénaline). Etude d'un glucoside nouveau la verbénaline). *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1908.
- 30.** BOURDIER (L.). — Sur la verbénaline, glucoside nouveau retiré de la verveine off. (*V. officinalis* L.). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **27**, 49 et 101.
- 31.** BOURDOUIL (Mlle C.). — Sur une méthode biochimique de dosage de l'amidon dans les plantes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 809.
- 32.** BOURQUELOT (Em.). — Sur l'époque de la formation des divers ferments de l'*Aspergillus niger*. Assoc. Franc. pour l'Avancement des Sciences., 1893, 236.
- 33.** BOURQUELOT (Em.). — Sur la présence dans le *Monotropa hypopitys* d'un glucoside de l'éther méthylsalicylique et sur le ferment hydrolysant de ce glucoside. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6), **3**, 577.
- 34.** BOURQUELOT (Em.). — Ferments solubles oxydants et médicaments. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6), **4**, 484.
- 35.** BOURQUELOT (Em.). — Recherche dans les végétaux du sucre de canne à l'aide de l'invertine et des glucosides à l'aide de l'émulsine. *C. R. Ac. Sc.*, 1901, **133**, 690. *Journ. Pharm. et Chim.* 1901, (6), **14**, 481.
- 36.** BOURQUELOT (Em.). — Généralités sur les ferments solubles qui déterminent l'hydrolyse des polysaccharides et des glucosides. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 386 et *Journ. Pharm. et Chim.*, 1903, (6), **17**, 409.
- 37.** BOURQUELOT (Em.). — Le sucre de canne dans les végétaux. *Bull. Soc. Hist. Natur. Ardennes.*, 1903, **10**, 8 et *Journ. Pharm. et Chim.*, 1903, (6), **18**, 241,

38. BOURQUELOT (Em.). — Sur quelques données numériques facilitant la recherche des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **1**, 510.
39. BOURQUELOT (Em.). — Sur la recherche dans les végétaux des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **23**, 369.
40. BOURQUELOT (Em.). — Sur l'emploi des enzymes comme réactifs dans les recherches de laboratoire. II Enzymes hydratants. Hydratases. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6), **25**, 16 et 378.
41. BOURQUELOT (Em.). — Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche dans les végétaux des glucosides hydrolysables par l'émulsine. Son application à l'étude des plantes employées en médecine populaire. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 241.
42. BOURQUELOT (Em.). — Remarques sur la méthode biochimique de recherche des glucosides hydrolysables par l'émulsine. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **171**, 423.
43. BOURQUELOT (Em.). — Les principes actifs de quelques plantes employées en médecine populaire, leur recherche par la méthode biochimique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, **3**, 71.
- 43 a. BOURQUELOT (Em.) et AUBRY (A.). — Synthèse biochimique d'un galactobiose. *C. R. Ac. Sc.*, 1916, **163**, 60 et *Journ. Pharm. et Chim.*, 1916, (7), **14**, 65.
44. BOURQUELOT (Em.) et BERTRAND (G.). — Le bleuissement et le noircissement des champignons. *C. R. Soc. Biol.*, 1895, (10) 582-584.
45. BOURQUELOT (Em.) et BERTRAND (G.). — Sur la coloration des tissus et du suc de certains champignons au contact de l'air. *Bull. Soc. Mycol. de France.*, 1896, **12**, 27-32.
46. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Analyse d'un tubercule de *Dioscorea Macabiha* provenant de Madagascar. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **28**, 494.

47. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur la recherche du raffinose dans les végétaux. Sa présence dans 2 graines de Légumineuses *Erythrina fusca* Lour et *Entada scandens* Benth. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **30**, 162.
48. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur la présence de la gentiopictine dans la chlore perfoliée (*Chlora perfoliata* L.). *C. R. Ac. Sc.*, 1910, **150**, 114. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **1**, 109.
49. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur un sucre nouveau le « verbascose » retiré de la racine de bouillon blanc. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 481.
50. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur une réaction synthétisante de l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **5**, 569.
51. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — De l'action hydrolysante et de l'action synthétisante de l'émulsine dans l'alcool méthylique. Obtention du méthylglucoside β . *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **6**, 56.
52. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Synthèse des glucosides d'alcool à l'aide de l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **6**, 97 et 164.
53. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur la température de destruction de l'émulsine dans les alcools éthylique de différents titres. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 27.
54. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Synthèse du géranylglucoside β à l'aide de l'émulsine, sa présence dans les végétaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7) **8**, 204.
55. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Action de l'invertine sur le sucre de canne dans les alcools méthylique et éthylique de différents titres. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1914, (7), **9**, 321.
56. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Application de la méthode biochimique à l'étude de plusieurs es-

- pèces d'Orchidées indigènes. Découverte d'un glucoside nouveau la « loroglossine ». *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **168**, 701. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1919, (7), **20**, 81 et 118.
57. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Recherche et caractérisation du glucose dans les végétaux par un procédé biochimique nouveau. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 631. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1920, (7), **21**, 205.
58. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, la scabiosine. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 486. *Bull. Soc. Chim. biol.* 1920, **2**, 119.
59. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Obtention biochimique du sucre de canne à partir du gentianose. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1920, **2**, 160.
60. BOURQUELOT (Em.) et DANJOU (E.). — Sur la présence d'un glucoside cyanhydrique dans le sureau et sur quelques-uns des principes de cette plante. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1905, (6), **22**, 154 et 210. *Arch. d. Pharm.*, 1907, **245**, 200.
61. BOURQUELOT (Em.) et DANJOU (E.). — Préparation du glucoside cyanhydrique du sureau à l'état cristallisé. Sur la Sambunigrine, glucoside cyanhydrique nouveau retiré des feuilles de sureau noir. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1905, (6), **22**, 219 et 385.
62. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Arbutine et méthylarbutine. Caractères, distinction et recherche dans les végétaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **1**, 62 et 104.
63. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Sur la présence d'un glucoside dans les feuilles de poirier et sur son extraction. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 97.
64. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Nouvelles recherches sur le glucoside des feuilles de poirier, son rôle dans la production des teintes automnales de ces organes. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911, (7), **3**, 5.

65. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Application de la méthode biochimique à l'étude des feuilles de *Kalmia latifolia* L. ; obtention d'un glucoside. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **5**, 49.
66. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Identification du glucoside des feuilles de *Kalmia latifolia* L. avec l'asébotine. *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **154**, 256. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912 (7), **5**, 296-300.
67. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Sur la présence de l'arbutine dans les feuilles de *Grevillea robusta*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **5**, 425.
68. BOURQUELOT (Em.) et FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Application de la méthode biochimique à la recherche du saccharose et des glucosides dans quelques Eriacées. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7) **8**, 158.
69. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Tyrosine, leucine et asparagine dans la gousse verte de grosse fève, cause du noircissement de cette gousse à la maturité. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1898, (6), **8**, 385-390.
70. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur la constitution du gentianose. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1901, (6), **13**, 305.
71. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Action des ferments solubles et de la levure haute sur le gentiobiose. Remarques sur la constitution du gentianose. *C. R. Ac. Sc.* 1902, **135**, 399. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1902, (6), **16**, 417.
72. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur un glucoside nouveau, l'aucubine retiré des graines d'*Aucuba japonica* L. *C. R. Soc. Biol.*, 1902, **54**, 695. *C. R. Ac Sc.*, 1902, **134**, 1441. *Ann. Chim. et Phys.*, 1905 (8), **4**, 289.
73. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — L'émulsine telle qu'on l'obtient avec les amandes est un mélange de plusieurs ferments. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, **55**, 219.

74. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur l'aucubine, glucoside de l'*Aucuba japonica* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1905, (6), **21**, 461.
75. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur l'origine et la composition de l'essence de benoîte, glucoside et enzyme nouveaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1905, (6), **21**, 481.
76. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, la bakankosine retiré des graines d'un *Strychnos* de Madagascar. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6) **25**, 417. *Arch. der Pharm.*, 1909, **247**, 56.
77. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Sur l'arbutine et quelques-uns de ses dérivés considérés au point de vue de leur pouvoir rotatoire et de leur dédoublement par l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **27**, 421.
78. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Appareil destiné au traitement des plantes fraîches par l'alcool bouillant. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911, (7), **3**, 145.
79. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Du choix de la levure dans l'application des procédés biochimiques à la recherche des sucres et des glucosides. (Réponse à M. L. ROSENTHALER). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **6**, 246.
80. BOURQUELOT (Em.) et HÉRISSEY (H.). — Application de la méthode biochimique à l'étude des feuilles fraîches d'*Hakea laurina* R. Br. Extraction de québrachite et d'arbutine. *Journ. Pharm. et Chim.* 1919, (7), **19**, 251.
81. BOURQUELOT, HÉRISSEY et COIRRE. — Synthèse biochimique d'un sucre du groupe des hexobioses, le gentiobiose. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **8**, 441.
82. BOURQUELOT (Em.) et VINTILESCO (J.). — Sur le poleuropéine, nouveau principe de nature glucosidique retiré, de l'olivier (*Olea europæa* L.). *C. R. Ac. Sc.* 1908, **147**, 533. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **28**, 303.

83. BOURQUELOT (Em.) et VINTILESCO (J.). — Sur les variations des proportions d'oleuropéine dans l'olive, depuis son apparition jusqu'à sa maturité. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911, (7), **3**, 1-13.
84. BOURQUELOT (Em.) et VERDON (E.). — La réversibilité des actions fermentatrices : émulsine et méthylglucoside β . *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 377.
85. BOURQUELOT (Em.) et VERDON (E.). — De l'emploi de proportions croissantes de glucose dans la synthèse biochimique du méthylglucoside β . Influence du produit de la réaction sur l'arrêt de celle-ci. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 575.
86. BRACONNOT. — Observations sur les avantages du *Datisca cannabina* dans l'art de la teinture. *Ann. Chim. Phys.* 1816, (2), **3**, 277.
87. BRACONNOT. — Examen chimique des tubercules de la gesse tubéreuse. *Ann. Chim. et Phys.*, 1818, **8**, 2.
88. BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans les genres *Veronica*, *Euphrasia*, *Odontites*, *Bartsia* et *Pentstemon*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 665.
89. BRAECKE (Mlle M.). — L'aucubine dans les espèces de *Rhinanthus* et de *Melampyrum* et sa recherche dans quelques autres Scrofulariacées. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1924.
90. BRAECKE (Mlle M.). — Variations dans la composition du *Rhinanthus Crista-Galli* L., du *Melampyrum arvense* L. et du *Melampyrum pratense* L. au cours de la végétation d'une année. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **8**, 155.
91. BRAECKE (Mlle M.). — La mélanogenèse chez les végétaux. *Ann. et Bull. Soc. Roy. Sc. Méd. et Nat. de Bruxelles.*, 1930, N° 7-8, 166.
92. BOURQUELOT (Em.) et BRIDEL (M.). — Sur la présence de la gentiopicroïne dans les racines et dans les tiges foliées de la gentiane pneumonanthe L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 149.

93. BRIDEL (M.). — Notes préliminaires sur un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, retiré du trèfle d'eau (*Menyanthes trifoliata* L.). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7) **2**, 165.
94. BRIDEL (M.). — Variations dans la racine de gentiane au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911, (7), **3**, 294.
95. BRIDEL (M.). — Sur la méliatine glucoside nouveau retiré du trèfle d'eau. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1911, (7), **4**, 49, 97 et 161.
96. BRIDEL (M.). — Application de la méthode biochimique à une nouvelle étude des préparations galéniques de la racine de gentiane. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1911.
97. BRIDEL (M.). — Sur la présence de la gentiopicroine, du gentianose et du saccharose dans les racines fraîches de la gentiane à feuille d'asclépiade. *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **155**, 1164. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 241.
98. BRIDEL (M.). — Sur la présence de la gentiopicroine dans la swertie vivace (*Swertia perennis* L.). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **6**, 481.
99. BRIDEL (M.). — Recherches sur les hydrates de carbone et les glucosides des Gentianées. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris, 1913.
101. BRIDEL (M.). — Sur la présence de la gentiopicroine, du gentianose et du saccharose dans les racines fraîches de la gentiane ponctuée (*Gentiana punctata* L.). *C. R. Ac. Sc.*, 1913, **156**, 627. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 289.
102. BRIDEL (M.). — Variations dans la composition du trèfle d'eau (plante entière) au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7), **7**, 529.
103. BRIDEL (M.). — Application de la méthode biochimique à l'étude du *Gentiana acaulis* L. ; obtention d'un

- nouveau glucoside, la « Gentiacauline ». *Journ. Pharm. et Chim.*, 1913, (7) **8**, 241.
- 104.** BRIDEL (M.). — Sur la conservation des préparations galéniques de gentiane obtenues avec une racine de gentiane séchée à l'air sans fermentation. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1920, (7), **22**, 411.
- 105.** BRIDEL (M.). — La synthèse biochimique des hexobioses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 329.
- 106.** BRIDEL (M.). — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa hypopitys* L.. Obtention d'un nouveau glucoside la monotropéine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7) **29**, 96. *Bull. Soc. Chim. biol.* 1923, **5**, 722.
- 107.** BRIDEL (M.). — Loganine ou méliatine ? *Bull. Soc. Chim. biol.* 1923, **5**, 801.
- 108.** BRIDEL (M.). — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa hypopitys* (2^e mémoire).. Obtention d'un nouveau glucoside à salicylate de méthyle, la monotropitine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, 918. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7), **29**, 217.
- 109.** BRIDEL (M.). — Sur la véritable nature du glucoside à salicylate de méthyle existant dans l'écorce du *Betula lenta* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 659. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7), **30**, 304.
- 110.** BRIDEL (M.). — Sur la présence de très fortes quantités de maltose libre dans les tubercules frais de l'*Umbilicus pendulinus* D. C. C. R. Ac. Sc., 1924, **176**, 1190. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 181.
- 111.** BRIDEL (M.). — Sur la présence de la monotropitine dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées : *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., et *S. gigantea* var. *rosea*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 679. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7), **30**, 400.
- 112.** BRIDEL (M.). — Application du procédé biochimique de caractérisation du glucose à la recherche de la maltase dans le malt. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 705.

- 113.** BRIDEL (M.). — Sur l'hydrolyse fermentaire du gentiacaucoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 31.
- 114.** BRIDEL (M.). — Sur l'hydrolyse fermentaire du monotropitoside (monotropitine). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 52.
- 115.** BRIDEL (M.). — Réforme de la nomenclature de Chimie biologique. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), **1**, 411.
- 116.** BRIDEL (M.). — Réflexions sur les diastases et sur leur spécificité. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, (8), **3**, 401.
- 117.** BRIDEL (M.). — Sur la présence dans l'émulsine des amandes de deux nouveaux ferments la primevèrosidase et la primevèrase. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 67.
- 118.** BRIDEL (M.). — Leçon inaugurale du Cours de Physique végétale du Muséum National d'Histoire Naturelle faite le 11 mars 1927, *La Pharmacie Française*, 1927, 31^e année, 156.
- 119.** BRIDEL (M.). — Recherche sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Le glucoside du *Lathrœa clandestina* L. est l'aucuboside (aucubine). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, **11**, 620.
- 120.** BRIDEL (M.). — Sur l'hydrolyse par l'émulsine de deux glucosides considérés comme non hydrolysables par ce produit fermentaire. Asébotoside (asébotine) et Phlorizoside (Phorizine). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 921. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **12**, 385.
- 121.** BRIDEL (M.). et ARNOLD (R.). — Sur l'emploi de divers agents de précipitation dans la préparation de l'émulsine des amandes. *Bull. Soc. Chim. biol.* 1920, **2**, 216.
- 122.** BRIDEL (M.) et BÉGUIN (C.). — Application de la méthode biochimique de recherche des glucosides hydrolysables par la rhamnodiastase à l'étude des racines

fraîches du *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc. Obtention d'un glucoside nouveau, le polydatoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 136.

- 123.** BRIDEL (M.) et BÉGUIN (C.). — Synthèse biochimique, à l'aide de l'émulsine des amandes, de l'éthyl-l-arabinoside α . *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 469.
- 124.** BRIDEL (M.) et BÉGUIN (C.). — Sur un nouveau glucoside hydrolysable par la rhamnodiastase, retiré des fleurs fraîches de l'*Ulex europæus* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 895.
- 125.** BRIDEL (M.) et BÉGUIN (C.). — Recherches biochimiques sur la composition du *Salix triandra* L. Obtention de rutoside, d'asparagine et d'un nouveau glucoside à essence hydrolysable par l'émulsine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 901.
- 126.** BRIDEL (M.) et BOURDOUIL (C.). — L'unédoside, nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, retiré des feuilles et des rameaux frais de l'Arbousier. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 910. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8) **12**, 241.
- 127.** BRIDEL (M.) et BRAECKE (Mlle M.). — Application de la méthode biochimique de BOURQUELOT aux tiges foliées et aux graines de *Melampyrum arvense* L. *Bull. Soc. Chim., biol.*, 1922, **4**, 96.
- 128.** BRIDEL (M.) et BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence de mélampyrite et d'aucubine dans les tiges foliées du *Melampyrum arvense* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1922, (7), **25**, 449.
- 129.** BRIDEL (M.) et BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence de saccharose et d'aucubine dans les graines du *Melampyrum arvense* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1922, (7), **26**, 129.
- 130.** BRAECKE (Mlle M.). — Application de la méthode biochimique de BOURQUELOT à la recherche des sucres et des glucosides dans quelques plantes de la famille des Scrofulariacées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 407.

- 131.** BRIDEL (M.) et BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence d'aucubine et de saccharose dans les graines de *Rhinanthus Crista-Galli* L. Rhinanthine et aucubine. La rhinanthine est de l'aucubine impure. *Bull. Soc. Chim., biol.*, 1923, **5**, 10. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1923, (7), **27**, 103 et 131.
- 132.** BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence d'aucubine et de mélampyre dans plusieurs espèces de mélampyres. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, 207.
- 133.** BRAECKE (Mlle M.). — Sur la présence d'aucubine et de mannite dans les tiges foliées de *Rhinanthus Crista-Galli* L. *Bull. Soc. Chim. biol.* 1923, **5**, 258.
- 134.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — L'orobanchine, glucoside nouveau retiré des tubercules frais de l'*Orobanche rapum*. Thuill. *Bull. Soc. Chim.*, 1924, (4), **25**, 1153.
- 135.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Le rhamnicoside, glucoside nouveau, générateur du vert de chine, retiré de l'écorce de tige du nerprun purgatif (*Rhamnus cathartica* L.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 811. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8) **2**, 375.
- 136.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Les produits de l'hydrolyse fermentaire du rhamnicoside : primevèrose et rhamnicogénol. La répartition du rhamnicoside dans le genre *Rhamnus*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 822. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), **2**, 427.
- 137.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Sur le processus du noircissement des Orobanches au cours de leur dessiccation. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 474.
- 138.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Le produit fermentaire extraits des graines de divers *Rhamnus* ou rhamnodiaxase. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1296, **8**, 35.
- 139.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Méthode biochimique de recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par la rhamnodiaxase. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 40.

- 140.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — L'oroboside, nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine retiré de l'*Orobis tuberosus* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 615. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **11**, 369.
- 141.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Recherches sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Sur un nouveau chromogène, l'orobérol, retiré de l'*Orobis tuberosus* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 317.
- 142.** BRIDEL (M.) et CHARAUX (C.). — Les produits d'hydrolyse de l'oroboside : glucose et orobol. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 765. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **11**, 417.
- 143.** BRIDEL (M.), CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Sur l'améliaroside nouveau glucoside de l'*Amelanchier vulgaris* Moench. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, 1111.
- 144.** BRIDEL (M.) et DELAUNEY (P.). — Sur les propriétés de la loroglossine et sur ses produits de dédoublement : glucose et loroglossigénine. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **177**, 776. *Bull. Soc. Chim.*, 1923, (4), **33**, 1801. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7), **29**, 393. *Chem. Zentr.*, 1923, **3**, 313 et 1029, 1924, **1**, 343 et 1543; 1924, **2**, 476.
- 145.** BRIDEL (M.) et DESMAREST (Mlle M.). — Recherches sur la percolation. Sur la rapidité de la dissolution des principes immédiats au cours de la percolation I. Tourteau d'amande amère. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1928, (8), **7**, 153 et 201.
- 146.** BRIDEL et DESMAREST (Mlle M.). — Sur un procédé permettant d'extraire du tourteau d'amande amère l'amygdaloside (amygdaline) et l'émulsine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, 373.
- 147.** BRIDEL (M.) et DESMAREST (Mlle M.). — Sur un procédé de percolation rapide pour l'extraction du raffinose du tourteau de coton. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, 510.

148. BRIDEL (M.) et DESMAREST (Mlle M.). — Sur la conservation des propriétés de l'émulsine des amandes. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1928, (8), **3**, 153.
149. BRIDEL (M.) et DESMAREST (Mlle M.). — Sur les propriétés d'une émulsine préparée depuis vingt-trois ans. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1928, (8), **8**, 201.
150. BRIDEL (M.) et GRILLON (Mlle S.). — Le glucoside à salicylate de méthyle du *Gaultheria procumbens* L. est le monotropitoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, 1326.
151. BRIDEL (M.) et GRILLON (Mlle S.). — Sur la présence de notables quantités de monotropitine dans le *Gaultheria procumbens* L. (plante entière) après dessiccation. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1929, **11**, 466.
152. BRIDEL (M.) et JOANID (N. J.). — Sur la diminution de l'activité de la glucosidase β de l'émulsine des amandes au cours de synthèses successives du méthylglucoside β . *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, (8), **12**, 337. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **12**, 337.
153. BRIDEL (M.) et PICARD (P.). — Sur la préparation et les propriétés du monotropitoside. *Bull. Soc. Chim.*, 1925, (4), **37**, 1028.
154. BRIDEL (M.) et RABATÉ (J.). — Variations dans la composition des rameaux frais de l'*Amelanchier vulgaris* Moench) au cours de la végétation d'une année. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **11**, 86.
155. BRIDEL (M.) et RABATÉ (J.). — Sur la présence de picéoside dans l'écorce de saule noir. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 332. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1930, (8), **11**, 561.
156. BRUNSTEIN (A.). — Ueber Spaltungen von Glycosiden durch Schimmelpilze. *Ber. z. Bot. Zentr.*, 1901, **10**, 1.
157. BÜCHNER (E.). — Alkoholische Gährung ohne Hefezellen. *Ber. chem. Ges.*, 1897, **30**, 117 et 1110.

- 158.** BUSSY. — Sur la formation de l'huile essentielle de moutarde. Untersuchungen über die Bildung des ätherischen Senföls. *Journ. Pharm.*, 1840, **26**, 39. *Lieb. Ann.*, 1840, **34**, 223.
- 159.** CALDWELL et COURTAULD. — The enzymes of yeast : amygdalase. *Proc. Of the Roy. Soc. (sér. B.)*, 1907, **79**, 350.
- 160.** CAPITAIN (L.). — Contribution à l'étude morphologique des graines de Légumineuses. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris, 1911-12.
- 161.** CHAMPION (P.) et PELLET (H.). — Influence de l'asparagine contenue dans les jus sucrés sur l'essai saccharimétrique ; destruction du pouvoir rotatoire de l'asparagine ; méthode de dosage. *C. R. Ac. Sc.* 1876, **82**, 819.
- 162.** CHARABOT (E.) et HEBERT (A.). — Recherches sur le mécanisme de l'éthérisation chez les plantes. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1901, **3**, 356.
- 163.** CHARPENTIER (M. J.). — Sur les pectines retirées du céleri-rave, des tubercules de *Stachys tubrifera* L., et de l'écorce d'orange amère. Application du procédé biochimique de caractérisation du galactose à l'étude de la composition de ces pectines. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 142.
- 164.** CHARAUX (C.). — Sur la présence d'aucubine dans les graines de *Veronica hederæfolia* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 568.
- 165.** CHARAUX (C.). — Sur le dédoublement biochimique de la rutine. Rutinose, nouveau biose provenant de ce dédoublement. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 631.
- 166.** CHARAUX (C.). — Sur la datiscine (datiscoside) glucoside du *Datisca cannabina* et sur ses produits de dédoublement. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, 1419. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 618.
- 167.** CHARAUX (C.). — Sur le mélilotoside, glucoside générateur d'acide coumarique extrait des fleurs de *Meli-*

lotus altissima Thuill. et *M. arvensis* Wallr. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 1.056.

- 168.** CHARAUX (C.). — Sur la nature du glucoside cyanhydrique existant dans les jeunes pousses du laurier-cerise et de quelques autres Rosacées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 711.
- 169.** CHARAUX (C.). — Sur le dédoublement biochimique du robinoside (robinine). Robinose, nouveau triose, provenant de ce dédoublement. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 915.
- 170.** CHARAUX (C.) et DELAUNAY (P.). — Sur la présence du loroglossoside (loroglossine) dans le *Listera ovata* R. Br. et l'*Epipactis palustris* Crantz. et sur quelques nouvelles réactions de ce glucoside. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, (8) **3**, 108. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 1148.
- 171.** CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Contribution à l'étude biochimique du genre *Salix*. III. Un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine, retiré de l'écorce du *Salix purpurea* L., le salipurposide. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 588.
- 172.** CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Contribution à l'étude biochimique du genre *Salix*. IV. La constitution chimique du salipurposide. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 814.
- 173.** CHEYMOL (J.). — Composition chimique de la racine du *Geum urbanum* L. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1926-27.
- 174.** CHEYMOL (J.). — Variations dans la composition glucoside de la racine de Benoite (*Geum urbanum* L.) au cours de la végétation d'une année (octobre 1929, septembre 1930). *Journ. Pharm. et Chim.*, 1931, (8), **13**, 726. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 470.
- 175.** CHODAT (R.) et EVARD (H.). — Sur la répartition et la localisation de la tyrosinase chez les végétaux supérieurs. *Compte-rendu Soc. Phys. et Hist. Natur. de Genève*, 1928, **45**, 52.

- 176.** CHODAT (R.) et ROUGE (L.). — Sur la localisation intracellulaire d'une oxydase et la localisation en général. *C. R. Ac. Sc.*, 1922, (2), **175**, 252.
- 177.** Chronologische Tabellen zur Pharmakochemie der letzten hundert Jahre. I. Alkaloïde, *Journ. Suisse Pharm.*, juillet 1920, **58**, 349.
- 178.** CIAMICIAN (G.) et RAVENNA (C.). — Sur la formazione dei glucosidi per mezzo della piante. *Rendiconti d. r. Acc. dei Lineei.*, 1909, (5), **18**, 594. Sul Contegno di alcune sostanze organische nei végétali. *Gazz. Chim. Ital.*, 1908, **38**, 682. *Acc. des Sciences dell. Istituta di Bologna.*, 1908, **5**, (6), 29, 1909, **6**, 109.
- 179.** CLAASSEN (E.). — On the bitter principle of the American cranberry (*Vaccinium macrocarpum*). *Amer. Journ. of Pharm.*, 1886, **58**, 321.
- 180.** COLIN (H.). — Préparation facile d'une solution de sucrase très active. *Bull. Assoc. Chimist. Sucr. et Distill.*, 1917, **35**, 85.
- 181.** COLIN (H.). — Action de la sucrase sur les satellites de l'inuline. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1920, **2**, 157.
- 181 a.** COLIN (H.). — La genèse des hydrates de carbone chez les végétaux. *Rev. des Ques., Sc.*, 1926, (4), **10**, 277.
- 182.** COLIN (H.). — Améliorations éventuelles dans l'industrie du sucre de betterave. Betterave. *Sucrerie Belge.* 1926-27, **46**, 449-473.
- 183.** COLIN (H.). — *Les diastases T. I. Les hydrolases*, Paris. O. Doin, 1931.
- 184.** COLIN (H.) et BELVAL (H.). — Titre acidimétrique et pouvoir hydrolysant. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 165.
- 185.** COLIN (H.) et CHAUDUN (Mlle A.). — Le pH des milieux sucrés et leur pouvoir d'inversion. *Bull. Assoc. Chim. Sucr. et Distill.* 1927-1928, **45**, 626-642.
- 186.** COLIN (H.) et FRANQUET (R.). — Une nouvelle plante à maltose, *Schizopepon Fargesii* Gagnepain. *C. R. Ac. Sc.*, 1928, **186**, 890.

- 187.** COLIN (H.) et LEBERT (M.). — Action des sels neutres sur l'inversion du sucre par les acides. *Rev. Gén. Bot.*, 1918, **30**, 241.
- 188.** COLIN (H.) et RICARD (P.). — Préparation et propriétés de la laminarine (laminaroloside) de *Laminaria flexicaulis*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 88.
- 189.** COMBES (R.). — Recherches sur la formation des pigments anthocyaniques. *C. R. Ac. Sc.*, 1911, **153**, 886. Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1909, (3), **9**, 275.
- 190.** COMBES (R.). — *La vie de la cellule végétale ; les enclaves de la matière vivante*, Paris, 1929. p. 4.
- 191.** CRATO (E.). — Gedanken über die Assimilation und die damit verbundene Sauerstoffausscheidung. *Ber. Bot. Ges.*, 1892, **10**, 250.
- 192.** DANJOU (E.). — Application du procédé biochimique à la recherche et au dosage du sucre de canne et des glucosides dans les plantes de la famille des Caprifoliacées. Etude de la sambunigrine. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1906.
- 193.** DE CUGNAC (A.). — Recherches sur les glucides des Graminées. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.* Paris, 1930.
- 194.** DE KONINCK (L.). — Ueber das Phloridzin (Phlorizin). *Lieb. Ann.*, 1835, **15**, 75-77.
- 195.** DELATTRE (A.). — Application de la méthode biochimique à l'hépatique trilobée. Présence d'un principe dédoublable par l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **4**, 292.
- 196.** DELAUNEY (P.). — La loroglossine, glucoside du *Loroglossum hircinum* Rich. ; sa présence dans diverses espèces d'Orchidées indigènes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, **3**, 238.
- 197.** DELAUNEY (P.). — Sur la présence de la loroglossine dans onze nouvelles espèces d'Orchidées indigènes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, 398. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1923, (7), **28**, 53.

198. DELAUNEY (P.). — Contribution à l'étude des glucosides de la famille des Orchidées. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1924.
199. DELAUNEY (P.). — Sur les glucosides de plusieurs espèces d'Orchidées indigènes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 1144.
200. DENIGÈS (G.). — *Précis de Chimie analytique* Maloine. Paris, 1931.
201. DE SAINT-STÉBAN (G.). — Application du procédé biochimique de caractérisation du glucose à quelques extraits de la pharmacopée française. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1922.
202. DESSAIGNES. — Notes sur les combinaisons de quelques amides. *Ann. Chim. et Phys.*, 1852, (3), **34**, 149.
203. DUBRUNFAUT. — Note sur le glucose. *Ann. Chim. et Phys.*, 1847, (3), **21**, 178.
204. DUCLAUX (E.). — *Encyclopédie chimique*. Paris, **9**, 124, 1883.
205. EFFRONT (J.). — *Les catalyseurs biochimiques*. Paris, **19**, 1914.
206. EKSTRAND (A. G.) und JOHANSON (C. J.). — Zur Kenntniss der Kohlehydrate 2^e Mittl. *Ber Chem. Ges.*, 1888, **21**, 594-597.
207. EYKMANN. — Sur les principes de l'*Andromeda japonica* Thunb. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*, 1882, **1**, 224, 1883, **2**, 200. Phyto-chemische Notizen über einige japonische Pflanzen. *Abhandl. des Tokio Daigaku.*, n° 10, 1883.
208. FABRE (R.) et PÉNAU (H.). — Recherches sur les ferments amylolytiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1923, (7), **28**, 289 et 341.
209. FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Recherche de l'arbutine dans les végétaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **28**, 255.

- 210.** FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Recherches relatives à l'action retardatrice de quelques composés sur l'hydrolyse des glucosides par l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **30**, 199.
- 211.** FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Le glucoside de la pyrole à feuille ronde. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 193.
- 212.** FICHTENHOLZ (Mlle A.). — Application de la méthode biochimique à l'analyse de la busserole. *Journ. Pharm. et Chim.* 1911, (7), **14**, 441.
- 213.** FISCHER (Em.). — Einfluss der Configuration auf die Wirkung der enzyme. I und II. *Ber. Chem. Ges.*, 1894, **27**, 2985 et 3479.
- 214.** FISCHER (Em.). — Ueber ein neues dem amygdalin ähnliches glucosid, *Ber. Chem. Ges.*, 1895, **28**, 1508-1549.
- 215.** FISCHER (Em.). — *Untersuchungen über Kohlenhydrate und Fermente* (1884-1908). Berlin, Springer 1909.
- 216.** FISCHER (Em.) et LINDER (P.). — Ueber die Enzyme von *Schizo-Saccharomyces octosporus* und *Saccharomyces Marxianus*. *Ber. Chem. Ges.*, 1895, **28**, 984.
- 217.** FRANQUET (R.). — La genèse de l'amidon dans quelques plantes à réserves amylacées. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris, 1932.
- 218.** GEDDES (W. F.) et HUNTER (A.). — Observations upon the enzyme asparaginase *Journ. of. biol. Chem.*, 1928, **77**, 197-229.
- 219.** GILLOT (P.). — Variation et migration des matières sucrées dans la mercuriale vivace au cours de sa végétation annuelle. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1922, (7), **26**, 250-56.
- 220.** GILLOT (P.). — Sur les variations de quelques réserves hydrocarbonées dans la mercuriale vivace. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **176**, 1657.
- 221.** GILLOT (P.). — Sur la présence du maltose dans les organes de réserve du *Mercurialis perennis*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1923, (7), **28**, 148-154.

- 222.** GILLOT (P.). — Extraction du maltose des organes de réserve de la mercuriale vivace (*Mercurialis perennis* L.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 380.
- 223.** GILLOT (P.). — Recherches chimiques et biologiques sur le genre *Mercurialis*. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris, 1924-25.
- 224.** GILLOT (P.) et LEGRAS (E.). — Sur les glucides de réserve du « *Petasites officinalis* » Moench. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1927, **34**, 205.
- 225.** GILLOT (P.) et MEUNIER (A.). — Résultats fournis par l'application de la méthode biochimique de BOURQUELOT à quelques espèces du genre *Lathyrus* L. *Assoc. Fr. Avanc. Sc.*, La Rochelle, 1928.
- 226.** GILLOT (P.) et MEUNIER (A.). — Sur la composition des tubercules de la gesse tubéreuse. (*Lathyrus tuberosus* L.). *Assoc. Fr. Avanc. Sc.*, Le Havre, 1929.
- 227.** GILLOT (P.) et MORISOT (Mlle A. M.). — Variations dans la composition glucidique du *Geranium pratense* L. au cours de la végétation annuelle. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1932, **39**, 465.
- 228.** GODRON. — *Flore de Lorraine.*, 1861, **1**, 208.
- 229.** GOLLAN (J. H.). — Table différentielle pour le calcul rapide du sucre réducteur dans la méthode de G. BERTRAND, publiée par le *Lab. Phys. Végét. du Muséum*.
- 230.** GORIS (A.). — Sur les constituants des essences de primèvre. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1914-1919, **1**, 163-170.
- 231.** GORIS (A.). — Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. *Thèse d'agrégation*, Paris, 1914.
- 232.** GORIS (A.). — Le rôle des glucosides en Biologie. *Rev. Génér. des Sc.*, 1921, **32**, 337.
- 233.** GORIS (A.). — BOURQUELOT Em. (notice biographique). *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1921, **23**, 305-339.

- 234.** GORIS (A.) et MASCRÉ (M.). — Recherches chimiques et biologiques sur les Primulacées et en particulier sur la racine de *Primula officinalis* Jacq. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1909, **16**, 695.
- 235.** GORIS (A.) et MASCRÉ (M.). — Sur l'existence dans le *Primula off.* Jacq. de 2 nouveaux glucosides dédoublables par un ferment. *C. R. Ac. Sc.* 1909, **149**, 947.
- 237.** GORIS (A.) et VISCHNIAC (Ch.). — Caractère et composition du primevèrose. *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **169**, 871.
- 238.** GORIS (A.) et VISCHNIAC (Ch.). — Composition du primevèrose, de la primevérine et de la primulavérine. *C. R. Ac. Sc.*, 1919, **169**, 975.
- 239.** GORIS (A.), MASCRÉ (M.) et VISCHNIAC (Ch.). — Glucosides et essences de primevère. *Bull. Soc. Chim.*, 1912, **19**, 589. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1912, **19**, 577 et 648.
- 240.** GRIMBERT (L.). — Recherches de petites quantités de maltose en présence de glucose. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1903, (6), **17**, 225.
- 241.** GRIMBERT (L.). — Sur l'essai de la diastase officinale d'après le Codex. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1916, **13**, (7), 5.
- 242.** GUARESCHI. — Ueber Asparagin. *Ber. Chem. Ges.*, 1876, **9**, 1435.
- 243.** GUÉRIN (P.). — L'action des anesthésiques, du froid et des rayons ultra-violets sur certaines plantes. *Rev. Scientif.* 1910, **48**, 804-807.
- 244.** GUÉRIN (P.) et LORMAND (Ch.). — Action du chlore et de diverses vapeurs sur les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 401.
- 245.** GUÉRIN (P.) et LORMAND (Ch.). — Action plasmolysante d'un certain nombre de vapeurs. *C. R. Ac. Sc.*, 1920, **170**, 1598.
- 246.** GUIGNARD (L.). — Recherches sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Tropéolées, Limnanthées, Résédacées, etc... *Journ. de Bot.*, 1890, **4**, 3, 21, 385, 412 et 435. 1893, **7**, 345, 393, 417 et 444.

- 247.** GUIGNARD (L.). — Sur quelques propriétés de la myrosine. *Bull. Soc. Bot.*, 1894, **41**, 418.
- 248.** GUIGNARD (L.). — Sur la métamorphose des glucosides cyanhydriques pendant la germination. *C. R. Ac. Sc.*, 1908, **147**, 1023.
- 249.** GUIGNARD (L.). — Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, (2), **149**, 91-93.
- 250.** GUILLAUME (A.). — Contribution à l'étude biologique des alcaloïdes. Recherches expérimentales sur le lupin. *Thèse Doct. ès Sc. Nat., Paris*, 1930.
- 251.** HARANG (P.). — Recherche et dosage du tréhalose dans les végétaux à l'aide de la tréhalase. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **23**, 16.
- 252.** HARANG (P.). — Dosage du tréhalose dans différents échantillons de tréhala. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **23**, 471.
- 253.** HARLAY (V.). — De l'hydrate de carbone de réserve dans les tubercules de l'avoine à chapelets. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1901, (6), **13**, 353-361.
- 254.** HARLAY (V.). — A propos du saccharose comme substance de réserve dans certains tubercules. *Bull. Soc. Hist. Nat. Ardennes*, 1903, **10**, 39.
- 255.** HARTIG. — Jahrb. f. Förster, 1861, **1**, 263, cité d'après VAN RIJN-DIETERLE. — *Die Glykoside*, 10, Gebrüder Borntraeger. Berlin, 1931.
- 256.** HENRI (V.) et LARGUIER DES BANCELS. — Application des méthodes physico-chimiques à l'étude de différents phénomènes de Biologie générale. *Journ. Physiol. et Pathol. gén.*, 1904, **6**, 261.
- 257.** HÉRISSEY (H.). — Recherche sur l'émulsine. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1899.
- 258.** HÉRISSEY (H.). — Recherche chimique et physiologique sur la digestion des mannanes et des galactanes par la séminase chez les végétaux. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.*, Paris, 1902-03.

- 259.** HÉRISSEY (H.). — Sur la prulaurasine, glucoside cristallisé retiré des feuilles de laurier-cerise. *C. R. Ac. Sc.*, 1905, **141**, 959. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **23**, 5.
- 260.** HÉRISSEY (H.). — Sur la nature chimique du glucoside cyanhydrique contenu dans les semences d'*Eriobotrya japonica*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **24**, 350.
- 261.** HÉRISSEY (H.). — Sur l'existence de la prulaurasine dans le *Cotoneaster microphylla* Wall. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **24**, 529.
- 262.** HÉRISSEY (H.). — Présence de l'amygdonitrileglucoside dans le *Cerasus Padus*. *Delarb. Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6), **26**, 194.
- 263.** HÉRISSEY (H.). — Préparation de l'arbutine vraie. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 248.
- 264.** HÉRISSEY (H.). — Présence de l'amygdonitrileglucoside dans le *Photinia serrulata*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, (7), **5**, 574.
- 265.** HÉRISSEY (H.). — Sur l'hydrolyse du méthyl-d-mannoside α par les ferments solubles. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **172**, 766. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1921, (7), **23**, 409.
- 266.** HÉRISSEY (H.). — Les glucosides. *Bull. Soc. Chim.*, 1923, **33**, 349.
- 267.** HÉRISSEY (H.). — Sur la présence d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans le *Baillonia spicata* H. Bn. et sur les produits de dédoublement de ce glucoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 195.
- 268.** HÉRISSEY (H.). — Sur l'aspéruloside, glucoside nouveau retiré de l'aspérule odorante, *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, 1695.
- 269.** HÉRISSEY (H.). — Sur la composition chimique de l'aspérule odorante. Extraction et propriété d'un nouveau glucoside l'aspéruloside. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), **2**, 177. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925., **7**, 1010.

- 270.** HÉRISSEY (H.). — Sur la recherche de l'aspéruloside dans les végétaux. Extraction de ce glucoside du *Galium Aparine* L., 1926, **8**, 489.
- 271.** HÉRISSEY (H.). — Extraction de l'aspéruloside du *Galium verum* L. Présence probable de ce glucoside dans de nombreuses plantes de la famille des Rubiacées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, **9**, 953.
- 272.** HÉRISSEY (H.). — Quelques aperçus sur la recherche la caractérisation et le dosage d'hétérosides végétaux. *Journ. de Pharm. de Belgique*, 1930, **12**, 1167.
- 273.** HÉRISSEY (H.) et BOURDIER (L.). — Sur un nouveau glucoside hydrolysable par l'émulsine l'erytaurine, retiré de la petite centaurée. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1908, (6), **28**, 253. *Jahresber. D. Pharm.*, 1908, **43**, 237.
- contenu dans le *Geum urbanum* L. *Bull. Soc. Chim. priétés de la géine, glucoside générateur d'eugénol* contenu dans le *Geum. urbanum* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 499. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, 384. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), **1**, 561. *Chem. Zentr.*, 1925, **1**, 1749.
- 275.** HÉRISSEY (H.) et LEBAS (C.). — Présence de l'aucubine dans plusieurs espèces du genre *Garrya*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **2**, 490.
- 276.** HÉRISSEY (H.) et LEFÈVRE (Ch.). — Sur la présence du raffinose dans le *Taxus baccata* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, **26**, 56.
- 277.** HÉRISSEY (H.) et SIBASSIÉ (R.). — Recherches biochimiques sur la nature et sur la quantité des principes hydrolysables par l'invertine et par l'émulsine contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, 759. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1924, (7), **30**, 345.
- 278.** HESSE (O.). — Uber den Zuckerbusch. *Lieb Ann.*, 1896, 290 et 317-321.
- 279.** HUGOUNENQ (L.) et LOISELEUR (J.). — De l'absorption élective des colloïdes. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 523.

- 280.** IRMISCH (F.). — Ueber *Lathyrus tuberosus* und einige andere Papilionaceen. Bot. Zeit., 1850, n^{os} 7, 8, 9), 57, 65 et 77, pl. III.
- 281.** JACOBY (F.). — Beitrage zur chemie der Salix Rinden. *Thèse inaugurale* Dorpat, 1890, citée d'après RABATÉ (J.) ([**331**], p. 965).
- 282.** JOHNSTON, auteur cité d'après BERTHELOT. — Sur quelques matières sucrées. C. R. Ac. Sc., 1855, **41**, 392.
- 283.** KARRER (P.). — Contribution à la constitution et à la configuration des glucosides. *Helv. Chem. Acta*. 1920, **3**, (3), 258.
- 284.** KARRER (P.), KARRER (W.) et CHAO (J. C.). — Glucoside VIII. Beitrag zur kenntniss des glycyrrhizins. *Helv. Chem. Acta.*, 1920, (3), **3**, 100.
- 285.** KAWALIER (A.). — Ueber die Blätter *Arctostaphylos Uva-Ursi*. *Lieb. Ann.* 1852, **82**, 241.
- 286.** KAWALIER (A.). — Untersuchung der Blätter von *Arctostaphylos Uva-Ursi*. *Lieb. Ann.* 1852, **84**, 356.
- 287.** KROMAYER. — Ueber das Enzianbitter. *Arch. der Pharm.*, 1862, (2), **90**, 27.
- 288.** KÜHNE (W.). — *Untersuch. physiol. Inst. Univers. Heidelberg.*, 1878, **1**, 291.
- 289.** LAMARCK. — *Encyclopédie Botanique*. An IV de la République, (1795), **4**, 624.
- 290.** LAURENT (J.). — *La végétation de la Champagne crayeuse*. Orlhac, Paris, 1921.
- 291.** LEBAS (C.). — Sur la présence d'aucubine dans diverses variétés d'*Aucuba japonica* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **30**, 390.
- 292.** LEFÈBVRE (Ch.). — Sur la taxicatine glucoside nouveau retiré du *Taxus baccata* L. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1907, (6), **26**, 241. *Arch. der Pharm.*, 1907, **245**, 486.
- 293.** LEFÈBVRE (Ch.). — Application des procédés biochimiques à la recherche et au dosage des sucres et des

glucosides des plantes de la tribu des Taxinées.
Etude de la Taxicatine. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*,
Paris, 1907.

- 294.** LE GRAND (L.). — Dosage du maltose ou du lactose en présence d'autres sucres réducteurs (emploi de la liqueur de BARFØED). *C. R. Ac. Sc.* 1921, **172**, 602. *Bull. Assoc. Chim. Suc. et Dist.*, 1921, **38**, 355. *Ann. falsif. et fraudes*, 1921, 14^e année, 132 et 268.
- 295.** LEROUX. — Séance du lundi 22 juin 1829 à l'Académie des Sciences. *Ann. Chim. et Phys.*, 1829, (2), **41**, 295.
- 296.** LEROUX. — Rapport relatif à l'analyse chimique de l'écorce du saule. *Ann. Chim. et Phys.*, 1830, **43**, 440.
- 297.** LIEBERMANN (G.) et HÖRRMANN (O.). — Ueber die farbstoffe und den glucosid-zucker der gelbbeeren. *Lieb. Ann.*, 1879, **196**, 299-338.
- 298.** MAQUENNE (L.) et DEMOUSSY (E.). — Sur le noircissement des feuilles vertes. *C. R. Ac. Sc.*, 1909, **149**, 957.
- 299.** MAQUENNE (L.) et DEMOUSSY (G.). — Le noircissement post-mortal des feuilles. *Rev. gén. Sc.*, mars 1910, 196-203.
- 300.** MELDINEY (M.). — Sur une réaction colorée de l'hydroquinone solide. *C. R. Ac. Sc.*, 1914, **158**, 1.782.
- 301.** MESTREZAT (W.). — Sur la formoltitration des acides aminés en solution aqueuse ou dans l'urine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1914, **1**, 107.
- 302.** MEUNIER (A.). — Recherches sur les variations de coloration des plantes au cours de leur dessiccation. Le chromogène de l'*Orobis niger* L. (*Lathyrus niger* Bernh) est l'arbutoside (arbutine). *C. R. Ac. Sc.*, 1930, **191**, 1.471. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 72.
- 303.** MEUNIER (A.). — La réforme de la Nomenclature en Chimie biologique. *Bull. Etud. en Pharm. Nancy.*, 1933, n° 44, 2.
- 304.** MEUNIER (A.). — Sur la présence du maltose dans les tubercules frais du *Lathyrus tuberosus* L. *C. R. Ac. Sc.*, 1933, **197**, 98.

- 305.** MEYER (A.). — Ueber gentianose. *Ztschr. für physiol. Chem.*, 1882, **6**, 135. *Ber. Chem. Ges.*, 1882, **15**, 530.
- 306.** MEYER. — *Die Lehre von den chemischen Fermenten oder Enzymologie*. 1882, Heidelberg.
- 307.** MINOR. — *Arch. der Pharm.*, 1830, **38**, 130, cité d'après VAN RIJN-DIETERLE. *Die glykoside.*, p. 281, Berlin, 1931.
- 308.** MOHR. — Ueber Traubenzuckerbestimmung, auf das Kupferoxydul bezogen. *Ztschr. für anal. Chem.*, **12**, 296-299 et 1373.
- 309.** MOUGNE (M.). — Recherches de la galactosidase β dans le règne végétal. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1917, (7), **15**, 339.
- 310.** MOUGNÉ (M.). — Contribution à l'étude de l'action synthétisante de la galactosidase β . *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1918.
- 311.** MOULINS (L.). — Sur une nouvelle réaction de l'asparagine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6), **3**, 543.
- 312.** MÜLLER (H.). — Ueber den Graswurzelzucker und über das Triticin ein neues Kohlenhydrat in Rhizom von *Triticum repens* L. *Arch. der Pharm.*, 1873, (3), **2**, 500-510 et **3**, 1-18.
- 313.** NELSON (J. M.) et BORN (S.). — A Study of the chemical constitution of invertase. *Amer. Chemic. Soc.*, 1914, **36**, 393.
- 314.** NEUBERG (C.). — Die Spaltung der Raffinose in Rohrzucker und in Galactose. *Ztschr. d. Ver. d. deutsch. Zucker Industrie.*, 1907, 440, 453-456.
- 315.** NEYRON (C.). — Recherches sur le principe fermentescible des tubercules d'asphodèle. *Bull. Soc. Pharmacol.*, 1930, **37**, 538-603, 1931, **38**, 38.
- 316.** NOTTIN (P.). — Dosage du maltose en présence d'autres sucres réducteurs par l'emploi de la liqueur de BARFÈD. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **179**, 410. *Bull. Soc. Chim.*, 1924, **35**, 1527.

- 317.** PARMENTIER (P.). — *Recherches sur les végétaux nour-*
rissants qui, dans les temps de disette, peuvent rem-
placer les aliments ordinaires. Paris, 1781., 263.
- 318.** PAYEN et PERSON. — Mémoire sur la diastase, les prin-
cipaux produits de ses réactions et leurs applica-
tions aux arts industriels. *Ann. Chim.*, 1833, **53**, 73.
- 319.** PERROT (E.) et GORIS (A.). — La stérilisation des plan-
tes médicinales dans ses rapports avec leur activité
thérapeutique. *C. R. Ac. de Méd.*, Paris, 22 juin 1909.
Bull. Sc. Pharmacol., 1909, **16**, 380-390.
- 320.** PFEFFER. — *Physiologie végétale* ; trad. Friedel., 1906,
1, 504.
- 321.** PIAULT (L.). — Sur la présence dans les parties sou-
terraines du *Lamium album* L., du stachyose (man-
néotétrose) et d'un glucoside dédoublable par
l'émulsine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **29**, 236.
- 322.** PIAULT (L.). — Sur la présence du stachyose dans les
parties souterraines de quelques plantes de la fa-
mille des Labiées. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7),
1, 248.
- 323.** PIAULT (L.). — Sur le stachyose. Sa recherche et sa pré-
sence dans la famille des Labiées. *Thèse Doct. Univ.*
(*Pharm.*), Paris 1910.
- 324.** PICTET (A.). — La distillation sèche dans le vide et son
application à l'étude des hydrates de carbonés.
D'après *Bull. Soc. Chim.*, 1920, **27**, 653.
- 325.** PICTET (A.) et GONDET (H.). — Sur la distillation de
quelques glucosides sous pression réduite. *Helv.*
Chem. Acta., 1919, (12), **2**, 698.
- 326.** POUGET (J.). — Action physiques, chimiques et bio-
logiques des rayons ultra-violets. *Thèse Doct. Univ.*
(*Pharm.*), Paris, 1922.
- 327.** POUSET (M.). — Des modifications du contingent gluci-
dique de quelques organes végétaux sous l'influen-
ce des vapeurs de chloroforme d'éther et de ben-
zène. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1933.

- 328.** PRIANICHNIKOV (M.). — Sur le rôle de l'asparagine dans les transformations des matières azotées chez les plantes. *Rev. Gén. de Bot.*, 1924, **36**, 108 et 159.
- 329.** PURIEWITSCH. — Ueber die Spaltung der glycoside durch die Schimmelpilze. *Ber. Bot. Ges.*, 1898, **16**, 308.
- 330.** RABATÉ (J.). — Sur la constitution de l'améliaroside ; son identité avec le picéoside. (Picéine de Ch. TANNER). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 146.
- 331.** RABATÉ (J.). — La Salicinéréine du « *Salix cinerea* L. » son identité avec le picéoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1930, **12**, 965.
- 332.** RABATÉ (J.). — Contribution à l'étude chimique et physiologique de l'Amélanchier (*Amelanchier vulgaris* Moench). *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1931.
- 333.** RABATÉ (Mme S.). — Contribution à l'étude chimique de la Gaulthérie (*Gaultheria procumbens* L.). *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1931.
- 334.** RABATÉ (J.). — Sur la présence du robinoside dans les fleurs de *Vinca minor* L., var *alba*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1933, **15**, 130.
- 335.** RICARD (P.). — Les constituants glucidiques des algues brunes. *Ann. Inst. Océanog.*, 1930, **8**, 102. *Thèse Doct ès Sc. Nat.*, Paris., 1930.
- 336.** RITTHAUSEN (H.) et KREUSLER (U.). — Ueber Vorkommen von Amygdalin und eine neue dem Asparagin ähnliche Substanz in Wickensamen (*Vicia sativa*). *Journ. für prakt. Chem.*, 1870, neue Folge, **2**, 333-338.
- 337.** RITTHAUSEN (H.). — Notiz über des asparagin ähnliche Substanz in Wickensamen. *Journ. für prakt. Chem.*, 1873, neue Folge, **7**, 374-375.
- 338.** RITTHAUSEN (H.). — Ueber Vicin Bestandtheil der Samen von *Vicia sativa*. *Ber Chem Ges.*, 1876, **9**, 301.
- 339.** RITTHAUSEN (H.). — Ueber Vicin und eine zweite stickstoffreiche Substanz der Wickensamen. *Journ. für prakt. Chem.*, 1881, neue Folge, **24**, 202-221.

- 340.** RITTHAUSEN (H.). — Vicin, ein glucosid. *Ber. Chem. Ges.*, 1896, **29**, 2108.
- 341.** RIVIÈRE et BAILHACHE. — De la présence de l'hydroquinone dans le poirier. *C. R. Ac. Sc.*, 1904, **139**, 81.
- 342.** ROBIQUET et BOUTRON-CHARLARD. — Nouvelles expériences sur les amandes amères et sur l'huile volatile qu'elles fournissent. *Ann. Chim. et Phys.*, (2), 1830, **44**, 352.
- 343.** ROYER. — *Flore de la Côte d'Or*, 1881.
- 344.** ROZIER. — *Cours complet d'Agriculture.*, 1784, **5**.
- 345.** SACHSSE. — Dosage de l'asparagine. *Journ. für prakt. Chem.*, 1872, neue Folge, **45**, 118, d'après *Bull. Soc. Chim.*, 1872 (2), 550.
- 346.** SCHEIBLER (C.) et MITTELMEIER (H.). — Mélitriose und mélibiose. *Ber. Chem. Ges.*, 1889, **22**, 3118.
- 347.** SCHNEIDER (W.) und LOHMANN (W.). — Untersuchungen über Senföle das Cheirolin-glykosid. *Ber. Chem. Ges.*, 1912, **45**, 2.954.
- 348.** SCHULZE. — Abscheidung des asparagins aus Flüssigkeiten. *Ber. Chem. Ges.* 1882, **15**, 2.855.
- 349.** SEIGNETTE (A.). — Recherches sur les tubercules. *Rev. Génér. de Bot.*, 1889, 415 et 471-558.
- 350.** SENGLET (Mlle A.). — La mélanogenèse chez quelques plantes d'un intérêt pharmaceutique. *Thèse n° 849, Doct. Pharm. Université de Genève*.
- 351.** SIBASSIÉ (R.). — Recherche sur les glucides contenus dans quelques graines de Légumineuses. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1927.
- 352.** SIEGFRIED (M. K.). — Grundlagen zur Extraktbereitung. *Supplém. au Journ. Suisse de Pharm.*, 1924, décembre, 22-28.
- 353.** SIGMUND (W.). — Über ein salicinspaltendes Enzym und ein arbutinspaltendes Enzym. *Monatsh für Chem.*, 1909, **30**, 77. *Sitzungsbericht d. Wiener Akad.*, 1908, **117**, 1213.

354. STEIN (W.). — Ueber die Farbstoffe der Rhamnus-Bereen (Persischen-Avignon oder Gelbbeeren). *Journ. für prakt. Chem.*, 1868, **105**, 97. 1869, **106**, 1.
355. SUMNER (J. B.) and HAND (D. B.). — Crystalline Uréase II. *Journ. of biol. Chem.*, 1928, **76**, 149-162.
356. TANRET (C.). — Sur la picéine, glucoside des feuilles de sapin épicéa. (*Pinus picea*). *Bull. Soc. Chim.*, 1894, (3), **11**, 944.
357. TANRET (C.). — Sur une nouvelle glucosane, la lévoglucosane. *Bull. Soc. Chim.*, 1894, **11**, (3), 949.
358. TANRET (C. et G.). — Sur le rhamninoze. *Bull. Soc. Chim.*, 1899 (3) **21**, 1065 à 1073. *C. R. Ac. Sc.*, 1899, **129**, 726.
359. TANRET (C. et G.). — Sur la rhamninase et la xanthorhamninoze. *Bull. Soc. Chim.*, 1899, (3), **21**, 1073-1075.
360. TANRET (C.). — Sur deux sucres nouveaux retirés de la manne, le mannéotétrose et le manninotriose. Composition de la manne. Sur le stachyose. *C. R. Ac. Sc.*, 1902, **134**, 1586. *Bull. Soc. Chim.*, 1902, **27**, 947 ; 1903, **29**, 888.
361. TANRET (C.). — Sur la présence du stachyose dans le haricot et les graines de quelques autres Légumineuses. *Bull. Soc. Chim.*, 1913, (4), **13**, 176. *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **155**, 1526.
362. TORQUATI, (TORQUATO). — Sulla presenza di una sostanza azotata nei germogli dei semi di « *Vicia faba* » *Archiv. di Farmac. sperim. e Scienze affini*, 1913, **15**, 213-223.
363. TORQUATI, (TORQUATO). — Sulla presenza di una sostanza azotata nel baccello verde dei frutti di « *Vicia faba* ». *Archiv. di Farmac. sperim. e Scienze affini*, 1913, **15**, 308-312.
364. TRAGUS (J.) ou BOCK. — *Nouvel herbier des plantes qui croissent en Allemagne*, 1559.
365. TSCHIRCH (A.) und CEDEBERG. — Sur la glycyrrhizine. *Arch. der Pharm.*, 1907, **245**, 97.

366. VAN EKENSTEIN (ALBERDA). — Sur le second méthylglucoside. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*, 1894, **13**, 183.
367. VAN RIJN-DIETERLE. — *Die glykoside*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, 1931.
368. VARCOVICI (H.). — Contribution à l'étude de quelques produits galéniques préparés avec des plantes stabilisées, dosage de leurs principes actifs. *Thèse Doct. Univ de Jassy*, 1927.
369. VAUQUELIN. — Expériences sur le *Daphne alpina*. *Ann. Chim.*, 1812, **83**, 173.
370. VAUQUELIN et ROBIQUET. — Découverte d'un nouveau principe dans les asperges. *Ann. Chim. et Phys.*, 1805, **57**, 88.
371. VERDON. — Contribution à l'étude de l'action synthétisante de l'émulsine. Action de l'émulsine sur le glucose en solution dans l'alcool méthylique. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1912-13.
372. VERGELOT (C.). — Application de la méthode biochimique à l'étude de quelques plantes de la famille des Caryophyllées et de celle des Papilionacées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, **3**, 513.
373. VINTILESCO (J.). — Recherche et dosage de la syringine dans les différents organes des lilas et des troènes. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **24**, 145-149.
374. VINTILESCO (J.). — Recherches sur les glucosides des Jasminées, syringine et jasmiflorine. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906, (6), **24**, 529.
375. VINTILESCO (J.). — Sur la présence du stachyose dans le jasmin blanc (*Jasminum officinale* L.), *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **29**, 336.
376. VINTILESCO (J.). — Etude de l'action des ferments sur le stachyose. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1909, (6), **30**, 167.
377. VINTILESCO (J.). — Sur l'existence de principe glucosidique et sur les variations de leur proportion dans deux espèces du genre *Veronica*. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1910, (7), **1**, 162.

- 378.** VINTILESCO (J.). — Recherches biochimiques sur quelques sucres et glucosides. *Thèse Doct. ès Sc. Nat.* Paris, 1910.
- 379.** VONGERICHTEN et MÜLLER. — Ueber *d*-glucose-phloroglucin und β -glykosan. *Ber. Chem. Ges.*, 1906, **39**, 241.
- 380.** VON PLANTA (A.) et SCHULZE (G.). — *a*) Neues Krystallisirb.. Kohlenhydrat. *b*) Stachyose. *Ber. Chem. Ges.* *a*) 1890, **23**, 1692. *b*) 1891, **24**, 2705.
- 381.** WAAGE (W.). — Ueber das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. *Ber. Bot. Ges.* 1890, **8**, 250.
- 382.** WATTIEZ (N.). — Sur la présence de méthylglucoside β dans les feuilles de *Scabiosa succisa* (Dipsacées). *Journ. Pharm. Belg.* 1925, **7**, 81-85. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, **7**, 1010.
- 383.** WATTIEZ (N.). — Contribution à l'étude biochimique des Dipsacées. Présence dans *Dipsacus arvensis* de méthylglucoside β et de scabioside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, 501. *Chem. Zentr.*, 1926, **2**, 1957.
- 384.** WATTIEZ (N.). — Le salireposide, hétéroside nouveau retiré des écorces de *Salix repens* L. (Salicacées). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 658.
- 385.** WEEVERS (Th.). — Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside. *Rec. Trav. Botan. Néerlandais.*, 1910, **7**, 1-62.
- 386.** WEISS (A.). — Ueber das Rutin. Vorgetraten beim. Apotheker-Gremium für Mittel-franken in Bayern. *Pharmaceutische Zentralblatt.*, 1842, **13**, 903-905.
- 387.** WIGGERS (H. A. T.). — Untersuchungen über das Mutterkorn, *Secale cornutum*. *Lieb. Ann.*, 1832, **1**, 173.
- 388.** WILL et LAUBENHEIMER. — Ueber das glucosid des weissen Senfsamens. *Lieb. Ann.*, 1879, **199**, 163.
- 389.** WILLSTÄTTER (R.) et BAMANN (G.). — Treunung von maltase und saccharase. VII. Ueber maltase. *Ztschr. für physiol. Chem.*, 1926, **151**, 273.

- 390.** WIOLAND (H.). — Recherches biochimiques sur quelques espèces du genre « *Potentilla* L. ». *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Nancy, 1931-32.
- 391.** WÖHLER (F.) und LIEBIG (J.). — Ueber die Bildung des Bittermandelöls. Verbesserung bei der Bereitung des Amygdalins. *Lieb. Ann.*, 1837, **22**, 1 ; 1837, **24**, 46.
- 392.** ZENDER (J.). — De l'action de la peroxydase sur les tan-
nins. *C. R. Soc. Phys. et Hist. Nat. de Genève*, 1925,
42, 56-60.
- 393.** ZWENGER et DRONKE. — Ueber Robinin, ein neues Glu-
cosid aus den Blüthen der Acacien (*Robinia Pseud-
Acacia*) und dessen Zusammenhang mit quercitrin.
Lieb. Ann., 1861, Supplementband, 2, 257-271.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction	9
Plan du travail.....	13

PREMIÈRE PARTIE.

Les méthodes biochimiques de recherche des osides. Origine et résultats.	17
--	----

CHAPITRE I. — Origine des méthodes biochimiques.

§ I. Ferments et action fermentaire	20
§ II. Spécificité des ferments des glucides (glucidases)	26
§ III. Application de la spécificité fermentaire dans la création des méthodes biochimiques ...	29

CHAPITRE II. — Les méthodes biochimiques et leurs techniques.....

§ I. Les méthodes biochimiques de recherche et de dosage des osides dans les végétaux. ...	32
1° Méthode à l'invertine.....	35
2° Méthode à l'émulsine.....	37
3° Autres méthodes biochimiques... .. (tréhalase, myrosine, poudre fermentaire, rhamnodiastase, poudre de pancréas.	39

§ II. Obtention des glucidases utilisées dans nos expériences	43
1° Préparation de l'invertine, source de sucrase	44
Constitution et spécificité de la sucrase.	
2° Préparation de l'émulsine	51
Constitution et spécificité de l'émulsine	54
3° Préparation et propriétés des poudres fermentaires	56
4° Préparation et propriétés de la rhamnodias- tase	57
§ III. Traitement des plantes étudiées	58
§ IV. Emploi général des méthodes	62
§ V. Interprétation des résultats	64
1° Action de l'invertine	64
2° Action de l'émulsine	66
3° Action de la rhamnodias- tase	70
4° Action de la poudre de pancréas. . . .	72
Conclusion	73
CHAPITRE III. — Résultats obtenus par l'application des méthodes biochimiques	74
Classification des glucides	76
I. Holosides découverts ou étudiés grâce aux méthodes biochimiques	77
Définition	77
Etude et classification	80
1° Holosides naturels	80
2° Holosides dérivant des précédents ou d'hétérosides naturels	82

II. Hétérosides découverts ou étudiés grâce aux méthodes biochimiques.....	83
Définition.....	83
Etude et classification.....	84
1° Hétérosides hydrolysables par l'émul- sine des amandes.....	84
a) découverts avant les méthodes bio- chimiques mais étudiés depuis par ces méthodes.....	86
b) découverts grâce aux méthodes bio- chimiques.....	88
2° Hétérosides hydrolysables par la rham- nodiasase.....	90
3° Hétérosides hydrolysables par la my- rosine.....	93

DEUXIÈME PARTIE.

Application des procédés biochimiques à la recherche et au dosage des glucides dans quelques espèces du genre <i>Lathyrus</i>	97
Généralités sur le genre <i>Lathyrus</i> (Papilionacées) ..	100
CHAPITRE I. — Gesse tubéreuse (<i>Lathyrus tuberosus</i> L.)	
Description générale de la plante.....	102
§ I. Recherches chimique et biochimique.....	103
I. Historique.....	103
II. Etude des racines.....	105
1° Recherches préliminaires. Essai bio- chimique.....	105

2° Extraction et identification de quelques glucides.....	107
Extraction et identification du saccha- rose	107
Extraction et identification du glucose.	110
Extraction et identification du maltose.	114
3° Evaluation des proportions relatives des différents glucides.....	121
4° Dosage des matières amylacées.....	125
5° Extraction et identification de l'aspa- ragine gauche.....	127
III. Etude biochimique des tiges foliées et des fleurs	131
IV. Etude des graines.....	132
Généralités.....	132
Description	133
Essai biochimique.....	133
Extraction et identification d'un holoside hydrolysable : le stachyose.....	135
§ II. Variation des oses et des osides au cours de la végétation annuelle du <i>Lathyrus tuberosus</i> L.	136
1° Biologie de la plante.....	136
2° Recherche et identification des ferments	138
3° Variations annuelles des oses et des osides	139
a) Période de vie uniquement souter- raine.....	140
b) Période de végétation aérienne.....	142
Conclusions.....	147

CHAPITRE II. — Gesse sauvage (*Lathyrus silvestris* L.).

Description.....	154
§ I. Etude biochimique et chimique.....	156
I. Racine.....	156
1° Essai biochimique.....	156
2° Extraction et identification du glucose, du saccharose et de l'asparagine....	157
II. Tiges foliées. Essai	158
III. Graines	159
1° Description	159
2° Essai biochimique	160
3° Extraction et identification d'un poly- holoside (Stachyose).....	161
§ II. Variations glucidiques dans les racines et les tiges foliées du <i>Lathyrus silvestris</i> L au cours de la végétation annuelle.....	163
1° Biologie de la plante.....	163
2° Variations annuelles des glucides....	164
a) racine	166
b) tiges foliées.....	169

CHAPITRE III. — Essais biochimiques de quelques
espèces du genre *Lathyrus*.....

§ I. Gesse Aphaca (<i>Lathyrus Aphaca</i> L).....	172
Description	172
Essai biochimique.....	173
a) plante entière.....	173
b) graines.	173

§ II. Gesse des marais (<i>Lathyrus palustris</i> L)....	175
Description.....	175
Essai biochimique.....	175
§ III. Gesse de Nissolle (<i>Lathyrus Nissolia</i> L)....	176
Description.....	176
Essais biochimiques.....	177
§ IV. Gesse hérissée (<i>Lathyrus hirsutus</i> L).....	178
Description.....	178
Essais biochimiques	178
a) plante entière.....	178
b) graines	179
§ V. Gesse des prés (<i>Lathyrus pratensis</i> L).....	180
Description.....	180
Essai biochimique.....	181
§ VI. Gesse du printemps (<i>Lathyrus vernus</i> Wimm = <i>Orobis vernus</i> L).....	182
Description	182
Essai biochimique	182
§ VII. Gesse à grosses racines (<i>Lathyrus macrorhizus</i> Wimm = <i>Orobis tuberosus</i> L).....	183
Description	183
Essai biochimique	183
Conclusion	184
CHAPITRE IV. — Gesse noire (<i>Lathyrus niger</i> BERNH = <i>Orobis niger</i> L).....	186
Description.....	188
§ I. Etude biochimique et chimique... ..	189

I. Tiges foliées	189
1° Essai biochimique.....	189
2° Extraction de l'hétéroside.....	191
3° Etude de l'hétéroside (arbutoside)...	194
II. Racine.....	203
1° Essai biochimique.....	203
2° Extraction d'acide glycyrrhizique....	205
III. Fleurs.....	207
Essai biochimique	207
IV. Fruits verts	209
Essai biochimique	209
II. Variations annuelles de quelques glucides dans les tiges foliées du <i>Lathyrus niger</i> Bernh	210
I. Recherche et identification de quelques dias- tases dans les tiges foliées et les racines...	210
II. Variations de quelques glucides au cours de la végétation annuelle.....	213
Conclusions.....	220
§ III Mélanogenèse chez les végétaux et, en particu- lier, chez le <i>Lathyrus niger</i> Bernh.....	221
§ IV. Influence des conditions de dessiccation sur la composition glucidique des tiges foliées du <i>Lathyrus niger</i> Bernh.....	227
1° Historique..	228
2° Recherches personnelles.....	230
Conclusions.....	238

CHAPITRE V. — I. Recherches chimique et biochimique sur l'arbutoside	241
1° Recherche chimique.....	241
2° Etude comparative des actions fermentaires sur l'arbutoside ..	242
II. Observations sur la formation et les variations de l'arbutoside dans les plantes.....	244
Les différentes conceptions sur le rôle des hétérosides et plus particulièrement de l'arbutoside	253
Conclusions générales	263
Index bibliographique	267

DEUXIÈME THÈSE.

Propositions données par la Faculté :

- 1° Les Zooferments des glucides.
- 2° Formations secondaires et tertiaires de la
Champagne crayeuse.

Vu et approuvé :
Nancy, le 9 juin 1933.
Le Président de la Thèse,
L. CUÉNOT.

Vu et approuvé :
Nancy, le 10 juin 1933.
Le Doyen
de la Faculté des Sciences,
L. LEAU.

Vu et permis d'imprimer :
Nancy, le 12 juin 1933,
Le Recteur de l'Académie de Nancy,
Président du Conseil de l'Université,
L. BRUNTZ.

LONS-LE-SAUNIER
Imprimerie M. DECLUME
—
1933

